



Naturalis

Repositorio Institucional

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar>

Universidad Nacional de La Plata

Facultad de Ciencias Naturales y Museo



Respuestas poblacionales de macroinvertebrados a distintas calidades de agua en cuerpos lóticos de la llanura pampeana

Ferreira, Ana Clara

Doctor en Ciencias Naturales

Dirección: Rodrigues Capitulo, Alberto

Facultad de Ciencias Naturales y Museo
2015

Acceso en:

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20150505001402>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional



Naturalis

Repositorio Institucional
FCNyM - UNLP



Tesis Doctoral

Respuestas poblacionales de macroinvertebrados a distintas calidades de agua en cuerpos lóticos de la llanura pampeana

Lic. Ana Clara Ferreira

Director: Dr. Alberto Rodrigues Capítulo

FCNyM - UNLP



2015

A mis queridos abuelos



Agradecimientos

En primer lugar agradezco a quien hace que todo tenga sentido, el que me sostiene, me guía y estuvo cerca mío durante el desarrollo de esta tesis y en cada momento de mi vida. A mi gran maestro, amigo y salvador. A **Jesús**.

En segundo lugar quiero agradecer al hombre maravilloso con quien tengo el privilegio de compartir mi vida. Gracias **Eric** por todo lo que hiciste y lo que hacés por mí. Gracias por haberme ayudado tanto en este proyecto, desde las madrugadas en Varela armando el laboratorio de bioensayos, ir los fines de semana a buscar agua a los arroyos, sacarme de mis “estancamientos intelectuales” y todo tu apoyo en cada día de batalla contra la desilusión y el cansancio. Te amo y no sé qué hubiera hecho sin vos.

También agradezco a mi **familia** (mamá, papá, abuelos, tía Elba, hermanas, suegros, cuñados, cuñadas, sobrinos y sobrinas), porque siempre han estado cerca y me fortalecen con su cariño. Gracias **mamá** por ser mi compañera, compinche y por estimularme siempre a seguir para adelante. Gracias por darme tu ejemplo, tu tiempo y tu amor incondicional. Gracias por haber sufrido y gozado conmigo. Te amo.

Gracias al Instituto de Limnología “Raúl A. Ringuelet” (**ILPLA**), que me abrió sus puertas y me acompañó en todo este recorrido. Gracias a mi director, **Alberto**, por introducirme al mundo de la limnología y por confiar en mí en este proyecto. Gracias por no escatimar los recursos para viajes, equipos, campañas, experiencias, etc., y por haber luchado incansablemente hasta lograr el sueño de un edificio propio para el Instituto. Gracias a todos mis **colegas, compañeros y amigos** distribuidos por cada uno de los laboratorios, oficinas y dependencias **del ILPLA**. No hubo ninguno que no me diera una mano, ya sea con las determinaciones de las especies, búsqueda de bibliografía, uso de equipos, consejos, cambio de agua de los caracoles, transporte desde Varela, etc. Gracias a la gente del laboratorio de **Plancton**, porque siempre estuvieron dispuestos a ayudarme y aconsejarme. Estoy eternamente agradecida con cada uno de mis compañeros del laboratorio de **Bentos** por su aguante y su amistad: Alberto, Caro, Vane, Euge, Analía, Pacha, Agustina, Estefy, Laura y Sabrina. Ustedes siempre me han apoyado, acompañado y sostenido. Gracias **Cristian**, quien no sólo es un gran amigo, sino también mi “salvador” en cada problema con las computadoras. A **Hernán y Palito**, por ayudarme en los muestreos y hacerlos más divertidos. Y mi especial gratitud es para **Vane y Joaquín**, quienes han sido de vital importancia en mi carrera, no solo desde lo académico, sino también desde su preciosa amistad. Los quiero mucho.

Muchísimas gracias a **Pablo Martín** y todo su **equipo** por estar siempre a disposición y ser mis “padrinos” con las pomáceas. A **Marcos Dreon** y todos los del laboratorio 8 bis del **INIBIOLP** que me abrieron sus puertas y me enseñaron tantas cosas. A los “pomacelogs” de **Mendoza** y la gente del **Museo de La Plata** (Alejandra Rumi y todo su equipo, Inés César, Florencia Colla, Stella Maris Martin y Ana Lía Estévez), por haberme ayudado con sus consejos y bibliografía.

Muchísimas gracias a los **jurados** de esta tesis: Cristina Claps, Alejandra Rumi y Diego Añón Suárez, quienes a través de sus correcciones, comentarios y sugerencias mejoraron sustancialmente este trabajo.

Por último agradezco a cada uno de mis **colegas, amigos** (locales y extranjeros) y **hermanos** en la fe. A cada uno de los que en algún momento me escucharon rezongar y me dio aliento para seguir.

A **todos**, ¡muchas gracias!

Tabla de Contenidos

RESUMEN.....	7
ABSTRACT	9
Capítulo 1: INTRODUCCIÓN	11
MARCO CONCEPTUAL Y ANTECEDENTES	11
La problemática del agua	11
Evaluación de la calidad del agua	13
Los usos del suelo y su impacto sobre la calidad del agua.....	18
Área de estudio	21
Especies seleccionadas para este estudio	24
HIPOTESIS GENERAL	28
OBJETIVOS	29
Capítulo 2: EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA DE LOS ARROYOS	30
INTRODUCCIÓN	30
Hipótesis:	31
Objetivos	32
Área de estudio	32
MATERIALES Y MÉTODOS	35
Características físico-químicas del agua.....	35
Calidad del hábitat físico.	36
Calidad biótica.....	39
RESULTADOS	42
Características físico-químicas del agua.....	42
Calidad del hábitat físico	45
Calidad biótica.....	49
DISCUSIÓN.....	55
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	57
Capítulo 3: ANÁLISIS DE RASGOS POBLACIONALES DE <i>HYALELLA CURVISPINA</i> Y <i>POMACEA CANALICULATA</i> Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DEL AGUA DE LOS ARROYOS	63
INTRODUCCIÓN	63
Hipótesis:	64
Objetivos	64
MATERIALES Y MÉTODOS	65
Criterio de selección de las especies a estudiar	65
Estudio de rasgos poblacionales	65
RESULTADOS	76

Rasgos poblacionales de <i>Hyaella curvispina</i>	76
Rasgos poblacionales de <i>Pomacea canaliculata</i>	82
DISCUSIÓN.....	94
Rasgos poblacionales de <i>Hyaella curvispina</i>	94
Rasgos poblacionales de <i>Pomacea canaliculata</i>	97
CONSIDERACIONES FINALES.....	102
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS.....	104
Capítulo 4: ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE HUEVOS Y ADULTOS DE <i>POMACEA CANALICULATA</i> PROVENIENTES DE ARROYOS VINCULADOS A DISTINTOS USOS DEL SUELO.	106
INTRODUCCIÓN	106
Hipótesis	108
Objetivos	108
MATERIALES Y MÉTODOS	108
Obtención de las muestras.....	108
Determinación de lípidos totales	109
Determinación de proteínas totales.....	109
Determinación de carbohidratos totales	110
Análisis estadístico de los datos	110
RESULTADOS	111
Lípidos	111
Proteínas.....	112
Carbohidratos	113
Análisis porcentual de la composición bioquímica	113
DISCUSIÓN.....	115
CONCLUSIONES	117
Capítulo 5: EVALUACIÓN DE LA UTILIZACIÓN DE <i>POMACEA CANALICULATA</i> PARA EL MONITOREO DE LA CALIDAD DEL AGUA MEDIANTE ENSAYOS DE SUPERVIVENCIA <i>IN SITU</i> EN ARROYOS PAMPEANOS	119
INTRODUCCIÓN	119
Hipótesis	122
Objetivos	122
MATERIALES Y MÉTODOS	123
Área de estudio	123
Experiencia de exposición	127
Análisis estadístico	129
Calidad del agua de los arroyos	130
Supervivencia de los neonatos	132
Tamaño final	133

DISCUSIÓN.....	134
CONCLUSIONES	137
CONSIDERACIONES FINALES	138
PERSPECTIVAS	140
BIBLIOGRAFÍA	141
ANEXOS	159
ANEXO I.....	159
ANEXO II	165
ANEXO III	168
ANEXO IV	171

RESUMEN

La calidad del agua de muchos ríos y arroyos se ve amenazada por las distintas actividades que el hombre realiza en las cuencas. Dada la importancia de la preservación y restauración de este valioso recurso, surge la necesidad de obtener nuevas herramientas que permitan evaluar de manera rápida, sencilla y fiable la calidad del agua, no limitándose sólo al análisis de sus características físico químicas, sino también a partir de las respuestas de la biota a las condiciones de su entorno. Por su ubicuidad, riqueza, sedentarismo y longevidad, los macroinvertebrados resultan apropiados como indicadores. En la presente investigación se evaluó la calidad del agua de arroyos pampeanos vinculados a distintos usos del suelo: urbano, industrial agrícola, ganadero y recreativo. En los arroyos Martín, El Pescado, Zapata y Buñirigo se estudió la calidad del agua desde diversas perspectivas, abarcando tanto aspectos bióticos como abióticos (variables fisicoquímicas del agua y características hidrológicas del cauce). Estos últimos incluyeron medidas tomadas en distintos niveles de organización, que van desde la bioquímica hasta los ensambles de macroinvertebrados, pasando por los individuos y haciendo énfasis en aspectos poblacionales de *Hyaella curvispina* (Crustacea: Amphipoda) y *Pomacea canaliculata* (Coenogastropoda: Ampulariidae). Los muestreos en esos arroyos se realizaron entre 2009 y 2010. En ellos se midieron parámetros fisicoquímicos y se analizó la calidad del hábitat físico (características del cauce y su vegetación) y de la biota (composición de los ensambles de macroinvertebrados, abundancias de especies sensibles y tolerantes e índices bióticos. A partir de los resultados de estas variables, se pudo establecer un orden decreciente de los arroyos en función de su calidad del agua: El Pescado > Zapata > Martín > Buñirigo. Simultáneamente, en esos arroyos se estudiaron rasgos poblacionales de *P. canaliculata* y *H. curvispina* como ser: densidad, biomasa, estructura etaria, proporción de sexos, fecundidad, fertilidad, crecimiento y supervivencia (los últimos tres sólo en *P. canaliculata*). Pese a que algunos de estos parámetros están influenciados por características del hábitat, la mayoría de los rasgos poblacionales analizados de ambas especies evidenciaron diferencias interpoblacionales que en general se correspondieron con los lo esperado según la calidad del agua.

Alteraciones en el metabolismo de los individuos pueden repercutir en niveles de organización superiores alterando, por ejemplo, los valores normales de crecimiento y fecundidad. Dada la utilidad del estudio de la composición bioquímica para evaluar múltiples factores de estrés, tanto naturales como antropogénicos, se analizó el contenido

de lípidos, proteínas y carbohidratos en huevos y tejidos (glándula de albumen y glándula digestiva) de hembras de *P. canaliculata* provenientes de los arroyos Martín, El Pescado, Zapata y Buñirigo. Las proporciones de lípidos, proteínas y carbohidratos en general fueron bajas en todos los tipos de muestras y evidencian poca relación con la calidad del agua, con una mayor variabilidad en la glándula digestiva. No obstante, las muestras del arroyo Martín presentaron valores más bajos que los de otros arroyos de estas sustancias, sugiriendo un peor estado nutricional. Esto concuerda con las menores tallas, tasas de crecimiento, fecundidad y fertilidad de los caracoles en este arroyo. Si bien estos resultados podrían ser consecuencia de la contaminación, no se descarta un posible efecto ligado al valor alimenticio de las macrófitas disponibles en ese arroyo.

Con el fin de obtener otra herramienta de monitoreo, también se realizó una experiencia de exposición *in situ* con neonatos de *P. canaliculata* en los arroyos periurbanos El Gato, Rodríguez y Martín (los dos primeros muy contaminados) para evaluar la supervivencia frente a distintas calidades de agua. Estos caracoles mostraron ser sensibles a la contaminación, ya que en los arroyos más impactados se registró una mayor mortalidad que el sitio menos contaminado y en el control de laboratorio. Por lo tanto, se propone calibrar y validar esta herramienta en estudios de calidad del agua y monitoreo de arroyos pampeanos.

El enfoque de esta investigación, abordada a través de múltiples niveles de organización, permitió obtener mayor información acerca del estado de los cuerpos de agua estudiados y discriminar los rasgos poblacionales que podrían constituir buenas herramientas para la evaluación de la calidad del agua por ser más sensibles. Asimismo, se destaca la necesidad de evaluar la calidad de los ecosistemas con un enfoque holístico, contemplando la interacción de los macroinvertebrados con las variables ambientales que operan en la regulación de sus poblaciones.

ABSTRACT

The water quality of many rivers and streams is threatened by multiple human activities in their basins. Given the importance of the preservation and restoration of this valuable natural resource, new fast, simple and reliable tools are needed for the assessment of water quality, taking into account not only the physical and chemical characteristics, but also the responses of its biota to environmental conditions. For their ubiquity, taxonomic richness, sedentary habits and longevity, macroinvertebrates are suitable as biological indicators. In the present study the water quality of Pampean streams linked to different land uses (urban, industrial, crops, cattle and recreational) was assessed. At the Martín, El Pescado, Zapata and Buñirigo streams, the water quality was studied from various perspectives, encompassing different abiotic aspects (physical and chemical variables of water and hydrological characteristics of the channel) and biotic features. The biological aspects were studied at different organization levels, ranging from biochemistry to macroinvertebrate assemblages, including individuals and emphasizing population characteristics of *Hyalella curvispina* (Crustacea: Amphipoda) and *Pomacea canaliculata* (Coenogastropoda: Ampulariidae). Samples were taken between 2009 and 2010, in which physicochemical parameters were measured along with the quality of the habitat (channel and vegetation characteristics) and the biota (macroinvertebrate assemblages composition, abundances of sensitive and tolerant species and biotic indices). According to the results, it was possible to rank the water quality of the streams in a decreasing order: El Pescado > Zapata > Martín > Buñirigo. Simultaneously, different population characteristics of *P. canaliculata* and *H. curvispina* in these streams were studied: density, biomass, age structure, sex ratio, fecundity, fertility, growth and survival rate (the last three were determined in *P. canaliculata* only). Despite the influence of the characteristics of the habitat on these parameters, most of the population traits analyzed in both species showed interpopulation variations in agreement with the water quality differences.

The alterations in the individual metabolism can affect higher organization levels by altering, for example, normal growth and fertility. Given the importance of biochemical composition studies in order to assess multiple natural and anthropogenic stressors, eggs, albumen gland and digestive gland of female *P. canaliculata* from the Martín, El Pescado, Zapata and Buñirigo streams were analyzed for total lipid, proteins and carbohydrate. Lipid, protein and carbohydrate proportions were generally low in

all samples types, and in general, showed little relation to water quality. However, samples from Martín stream had lower lipid, protein and carbohydrate concentrations than the snails from the other streams, suggesting a worse nutritional status. This is consistent with the smaller size, growth rates, fecundity and fertility of the snails in the stream. Although these results could be a consequence of the pollution, possible effects linked to the consumption of the macrophytes present in the stream cannot be ruled out.

In order to develop another monitoring tool, *in situ* experiments with newborn *P. canaliculata* caged in the urban streams El Gato, Rodríguez y Martín (the first two, highly polluted). For this purpose, survival rate under different water qualities was evaluated. These snails were susceptible to pollution, since in the most impacted streams there was a higher mortality than in the less polluted and in the laboratory control. Therefore, it is proposed to calibrate and validate this tool for studies of water quality monitoring in Pampean streams.

The approach of this research, focusing at multiple levels of organization, allowed discriminating the population traits that could be useful for water quality assessment from those that should be regarded cautiously. In addition, this research highlights the need to assess the quality of ecosystems in a holistic way, taking into account the interaction of macroinvertebrates with the environmental variables, which regulate their populations.

A.C. Ferreira
Tesis Doctoral

2015



INTRODUCCIÓN

Capítulo 1: INTRODUCCIÓN

MARCO CONCEPTUAL Y ANTECEDENTES

La problemática del agua

Las aguas continentales superficiales constituyen aproximadamente un 0,4% del agua total del planeta y representan un recurso estratégico para el hombre, proveyendo para sus necesidades de agua potable, riego, procesos industriales, actividades recreativas, etc. (Elosegi y Sabater, 2009). De ese pequeño porcentaje, apenas un 1,6% alberga complejos ecosistemas acuáticos en ríos y arroyos (Fig. 1.1), constituyendo un reservorio de valiosa diversidad de bacterias, hongos, algas, macrófitas, protozoos, vertebrados e invertebrados (Margalef, 1983). El mal uso de este recurso ha conducido a la sobreexplotación y contaminación del mismo, afectando las posibilidades de aprovechamiento de los servicios ecosistémicos brindados por los cuerpos de agua superficiales. Esta circunstancia se ve agravada por la expansión de los asentamientos urbanos y el aumento en las actividades agropecuaria e industrial vinculados al incremento constante de la población mundial (Auge, 2006). A partir la década del 60 comenzó a tomarse conciencia a nivel mundial de la necesidad del cuidado de las aguas superficiales y a partir de entonces, se han establecido políticas regulatorias respecto al uso y contaminación del agua que pretenden reglamentar el uso de este recurso de manera sustentable (Franza, 2009).

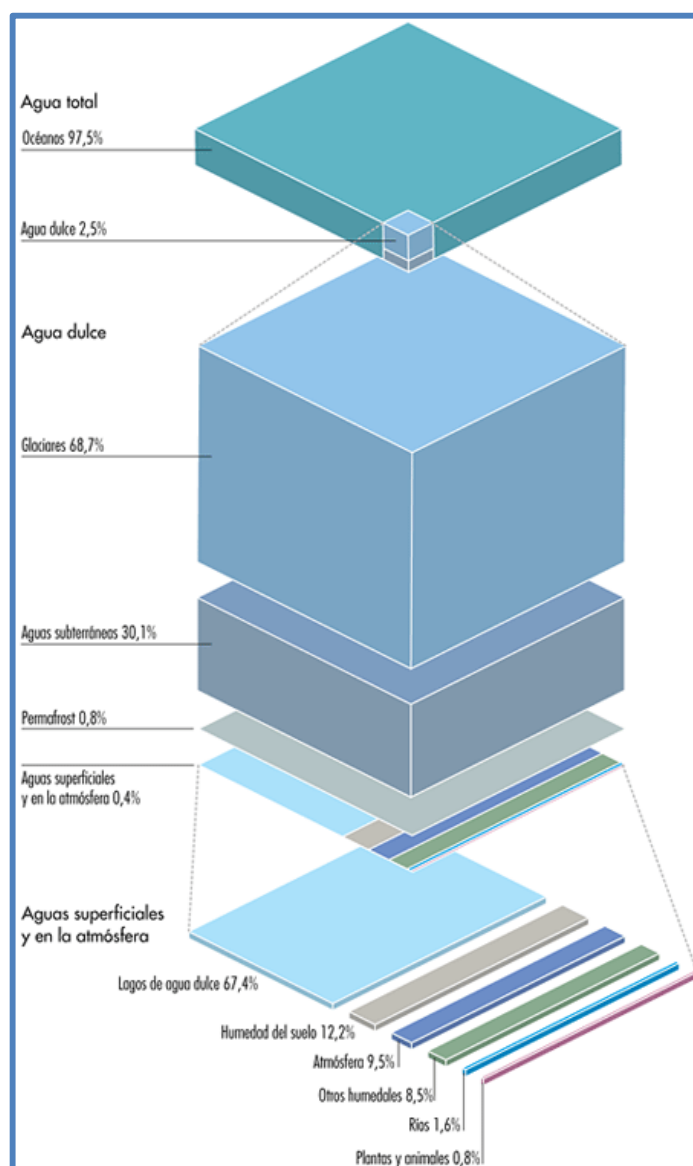


Fig. 1.1. Distribución de las aguas en el planeta. *Fuente:* PNUMA (2007).

El territorio argentino cuenta con un caudal medio anual de 26.000 m³/s, de los cuales un 85 % se encuentra concentrado en la Gran Cuenca Del Plata, integrada por los ríos Paraguay, Paraná, Uruguay y el estuario del Río de la Plata (INA, 2010). La urbanización poco planificada sumada a las actividades agrícola, forestal, ganadera e industrial desarrolladas de modo no sustentable, constituyen una amenaza creciente para la calidad de las aguas superficiales y subterráneas (Allan, 2004; Auge, 2006). Al mismo tiempo, en el país existe escasa información respecto a los límites tolerables de contaminación en, por lo que los científicos aún deben recurrir a valores guía internacionales al momento de establecer la calidad de agua y de sedimentos.

Debido a la importancia a nivel nacional e internacional de la preservación del recurso dulceacuícola y su biota asociada, surge la necesidad de obtener nuevas herramientas para la evaluación de la calidad del agua que sean capaces de brindar información rápida y precisa a quienes toman las decisiones.

Evaluación de la calidad del agua

La **calidad del agua** se ha evaluado tradicionalmente en términos de parámetros físico-químicos de la columna de agua. Sin embargo, El concepto de “**calidad ecológica**” de los ecosistemas acuáticos no sólo contempla las características físico-químicas del agua, sino también la calidad del hábitat físico y de la biota (**Fig. 1.2**). La **calidad de hábitat físico** está dada por las características del lecho (tipo de sustrato, granulometría, abundancia y toxicidad de contaminantes, etc.), así como por la cobertura y el tipo de vegetación, el estado de las márgenes y otras características hidrogeomorfológicas del cauce (sinuosidad, velocidad del agua, caudal, etc.) (Barbour *et al.*, 1999). El hábitat físico está involucrado íntimamente en la generación de microhábitats, los cuales albergan la mayor diversidad funcional del ecosistema (Merrit y Cummins, 1996; Heino, 2005). La **calidad biótica** está dada por la estructura y funcionamiento de todos los componentes del ecosistema (bentos, plancton, biofilm, macrófitas, etc.) y se encuentra estrechamente vinculada a la calidad del **hábitat acuático**, es decir, al conjunto de características físicas, químicas y biológicas locales que proporcionan un entorno para la biota (Gómez y Cocheró, 2013). Si bien se ha señalado que la calidad del agua representa uno de los aspectos que define la calidad ecológica de un ecosistema, tanto en la bibliografía como en la presente investigación, la expresión “calidad del agua” es utilizada en sentido más amplio, contemplando todos los factores que determinan la habitabilidad de un cuerpo de agua (Chapman, 1996). En la figura 1.2 se esquematizan las relaciones entre todos estos conceptos expuestos que en conjunto definen la calidad ecológica del cuerpo de agua.



Figura 1.2. Esquema resumen de los componentes de la calidad ecológica de los ecosistemas acuáticos

El efecto de un disturbio (natural o antropogénico) sobre la calidad biótica de un ecosistema puede analizarse a través de dos tipos de respuestas: las estructurales y las funcionales. Las respuestas estructurales son evaluadas, fundamentalmente, a través de la composición taxonómica de los ensambles de organismos y la abundancia de los taxa. Las respuestas funcionales, en cambio, incluyen las vinculadas al *rol* de los componentes de la biota en los ecosistemas. Estas últimas respuestas se encuadran en el concepto de “hábitat templet” (Southwood, 1977), el cual establece que las especies que componen los ensambles manifiestan rasgos que se relacionan con las características del ambiente en el que habitan (Korfiatis y Stamou, 1999; Mellado Díaz *et al.*, 2008). Tales rasgos se han clasificado como: **rasgos biológicos** (ciclos de vida, fisiología, comportamiento, tallas máximas alcanzadas, estrategias reproductivas, movilidad, etc.) y **rasgos ecológicos** (preferencias de pH, temperatura, salinidad, distribución biogeográfica, tolerancia a la contaminación orgánica, entre otros) y su estudio a partir de especies de invertebrados ha sido ampliamente utilizado en el biomonitoreo de muchos cuerpos de agua (Dolédec *et al.*, 1999; Usseglio-Polatera *et al.*, 2000; Dolédec y Statzner, 2008; Verberk *et al.*, 2008; Menezes *et al.*, 2010; Feld *et al.*, 2014).

La importancia de conocer las respuestas estructurales y funcionales de los organismos radica en que éstas ofrecen información que permite integrar los sucesos del ambiente a distintas escalas temporales y espaciales (Brinkhurst, 1993; Rodrigues Capítulo y Gómez, 2003).

⦿ ***Uso de macroinvertebrados para la evaluación de la calidad del agua.***

Los macroinvertebrados acuáticos representan un componente muy importante de los sistemas de agua dulce, no sólo por su elevada diversidad y biomasa, sino también porque cumplen un importante rol en el flujo de materia y energía en los cuerpos de agua (Margalef, 1983; Wallace y Webster, 1996; Rodrigues Capítulo *et al.*, 2009). Asimismo, como fuera señalado, estos animales representan un grupo de buenos indicadores de calidad del agua, ya que brindan información a través de sus respuestas estructurales y funcionales (Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001; Feld y Hering, 2007). Las respuestas estructurales pueden medirse a través de la utilización de **índices bióticos** basados en la composición taxonómica de la comunidad. Si bien algunos índices se basan solamente en la riqueza y diversidad de especies, otros índices ponderan la presencia de determinadas especies en función de su sensibilidad a la calidad del agua. Las respuestas funcionales, en cambio, suelen ser analizadas mediante el estudio de determinados **rasgos** biológicos y/o ecológicos de las especies presentes u otras respuestas medidas en otros niveles de organización.

Mandaville (2002), entre otros, resalta algunas de las características que hacen de los macroinvertebrados eficientes bioindicadores:

- **Ubicuidad**, lo que permite encontrarlos ambientes muy diversos sometidos a distintos tipos de disturbio;
- Alta **riqueza** específica; esto brinda la posibilidad de obtener distintas respuestas según las especies;
- **Sedentarismo** (o limitados en la distancia de migración), lo que favorece a la delimitación de la escala espacial de las perturbaciones;
- Relativa **longevidad**, rasgo que facilita el seguimiento temporal en abundancia y estructura etaria de determinadas especies;
- **Integración de información temporal**, ya que proveen información acerca de las condiciones ambientales en un período relativamente largo de tiempo.

⦿ *Uso de índices bióticos con macroinvertebrados para la determinación de la calidad del agua*

Los índices bióticos constituyen una herramienta muy utilizada en la evaluación de la calidad del agua y el biomonitoreo de diversos ecosistemas dulceacuícolas alrededor del mundo (Wallace *et al.*, 1996; Davis *et al.*, 1999). Entre los más utilizados se encuentran los índices de diversidad, riqueza y equitabilidad, aunque también se han desarrollado otro tipo de índices bióticos que resultan en valores numéricos determinados, asignándole un puntaje (“scores”) a determinados niveles taxonómicos en función de su sensibilidad. Así, la predominancia de taxa sensibles otorga elevados valores a estos índices e indica buena calidad del agua, mientras que, una mayor abundancia de taxa tolerantes indica bajos valores del índice y un deterioro ambiental.

Entre las ventajas que ofrece el uso de índices bióticos están la rapidez con la que pueden calcularse, su fácil interpretación y la posibilidad de comparación con otros sistemas similares según el valor obtenido. No obstante, también existen algunas desventajas. En primer lugar está la dificultad en la determinación taxonómica dentro de algunos grupos, lo cual muchas veces implica la necesidad de asesoramiento de especialistas. Por otra parte, la sensibilidad de muchos taxa es desconocida, teniendo que recurrir a referencias de otras especies o estimaciones *ad hoc*. Barbour *et al.* (1999) ofrecen un extenso listado de especies de macroinvertebrados acuáticos de Norteamérica con sus correspondientes valores de tolerancia, pero la utilización en otros países de listados biológicos obtenidos para los Estados Unidos, es cuestionada, ya que no siempre puede extrapolarse a los taxa representantes de otras regiones (Tomanova *et al.* 2006), resultando imprescindible ajustar cada índice a la región que se desea estudiar en base a las especies locales (Davis *et al.*, 1999). Otra desventaja de los índices bióticos radica en que la tolerancia/sensibilidad de las especies generalmente se calcula para un determinado tipo de contaminación, ignorándose las respuestas a otros contaminantes o el posible efecto sinérgico de una combinación de ellos. Por lo tanto, si bien la información que brindan estos índices es muy valiosa, es importante complementar los resultados que éstos arrojan con el análisis simultáneo de uno o varios rasgos funcionales.

⦿ *Utilización de rasgos funcionales de macroinvertebrados para la determinación de la calidad del agua*

Además de los rasgos biológicos y ecológicos de las especies mencionados previamente, existen otros rasgos funcionales medidos a distintos niveles de organización que pueden brindar información respecto a la calidad del agua de un ecosistema. Dado que cada nivel de organización de la vida se encuentra anidado en el nivel superior, los cambios observado a niveles inferiores pueden manifestarse en los niveles superiores, de modo que tanto la homeostasis de los individuos como la homeorresis del ecosistema pueden verse afectados (Odum, 1971). Respuestas que desencadenan estrés oxidativo (medido a nivel bioquímico), por ejemplo, puede causar daños en la estructura del ADN (medido a nivel celular); esto puede derivar en la ocurrencia de deformaciones (medidas a nivel individual) que interfieran en la apropiada alimentación y reproducción de los organismos (medida a nivel poblacional). Similarmente, el desbalance en la homeostasis metabólica (medido a nivel bioquímico) también puede repercutir sobre el crecimiento y reproducción de los individuos (nivel individual) afectando la densidad y biomasa poblacionales (nivel poblacional). De perdurar en el tiempo, estos efectos pueden conducir a la disminución en la complejidad estructural y funcional de las comunidades (ensambles). En general, la mayoría de las investigaciones exploran respuestas funcionales a un sólo nivel de organización (Tabla 1.1); sin embargo, la extrapolación de los resultados a posibles efectos sobre los niveles de organización superiores debe realizarse con ciertas precauciones (Forbes *et al.*, 2010; Jager y Klok, 2010).

Tabla 1.1. Ejemplos de rasgos biológicos en invertebrados y sus respuestas, medidos a distintos niveles de organización.

Nivel	Rasgos medidos	Respuesta
Bioquímico	Estrés oxidativo	Aumento de actividad enzimática antioxidante
	Reservas energéticas	Aumento de la oxidación lipídica y disminución de las reservas (lípidos, proteínas y glucógeno)
	Disrupción endócrina	Aumento de vitelogeninas
Celular y subcelular	Integridad del material genético	Aumento de mutaciones y daños en el ADN
Individual	Malformaciones anatómicas	Deformación de piezas bucales; malformaciones del tracto reproductivo
	Crecimiento	Menor crecimiento
	Metabolismo	Alteraciones varias
	Comportamiento	Disminución en la tasa de alimentación y en la actividad motora
Población	Deriva	Aumento de deriva
	Fecundidad	Disminución en el número de huevos por hembra
	Fertilidad	Aumento de huevos inviables
	Densidad	Menor densidad
	Biomasa	Menor biomasa
Comunidad	Estructura	Cambios en la composición taxonómica y grupos funcionales
	Relaciones tróficas	Simplificación de las redes tróficas

Los usos del suelo y su impacto sobre la calidad del agua

Existen numerosos estudios que documentan el impacto de los distintos usos del suelo sobre la integridad biótica de ríos y arroyos (Allan, 2004; Clapcott *et al.*, 2012). Pero para elaborar conclusiones ambientalmente relevantes a partir del estudio del componente biótico de un cuerpo de agua, resulta fundamental conocer los usos del suelo que podrían comprometer la calidad ecológica. Según la FAO, el uso **del suelo** se define como las acciones, actividades e intervenciones que las personas realizan sobre un determinado tipo de superficie para producir, modificarla o mantenerla (www.fao.org). Entre los usos del suelo más extendidos se encuentran el urbano, el agrícola, el ganadero, el forestal, el

industrial, el extractivo (minería) y el recreativo, muchos de los cuales generalmente toman lugar en las proximidades de un cuerpo de agua (Hurtado *et al.*, 2006).

El constante crecimiento demográfico ha conducido a una expansión del uso urbano del suelo en detrimento de áreas naturales, lo cual trae aparejadas diferentes consecuencias sobre los cuerpos de agua dulce superficiales (Cottingham *et al.*, 2004). En la tabla 1.2 se muestran algunos rasgos analizados en “*síndrome de arroyo urbano*”, definido como “el conjunto de cambios detectados en distintos niveles (hidrológico geomorfológico, químico y biológico) y sus consecuencias sobre el componente biótico” (Walsh *et al.*, 2005).

Tabla 1.2. Rasgos afectados por el “síndrome del arroyo urbano” (adaptado de Walsh *et al.*, 2005).

Rasgo	Respuesta
Hidrología	↑ escurrimiento superficial ↑ flujo erosivo ↑ caudal
Química del agua	↑ nutrientes ↑ tóxicos ↑ temperatura
Morfología del canal	↑ ancho del canal ↑ profundidad de piletones ↑ socavado ↓ complejidad del canal
Invertebrados	↑ taxa tolerantes ↓ taxa sensibles
Peces	↓ taxa sensibles
Algas	↑ diatomeas eutróficas ↓ diatomeas oligotróficas

Los contaminantes que ingresan a los ríos y arroyos urbanos son muy variados en naturaleza y origen. Entre los más frecuentes se hallan los nutrientes, metales pesados, hidrocarburos y otros compuestos derivados de la actividad industrial llevada a cabo en áreas urbanas (Taebi y Drostre, 2004). Asimismo, las aguas servidas y efluentes cloacales aportan grandes cantidades de materia orgánica y bacterias a las aguas superficiales, e incluso pueden contener contaminantes derivados de productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPs) que, según su polaridad, se presentan disueltos en la columna

de agua o adsorbidos a los sedimentos (Besse y Garric, 2009; Sodré et al., 2010). Muchos PPCPs actúan como disruptores endócrinos en organismos acuáticos y pueden acarrearles diversos trastornos reproductivos (Rod guez et al., 2007; Ketata et al., 2008; Scholz et al., 2013). La relevancia ambiental de la presencia de estos compuestos en los cuerpos de agua radica en que sus efectos a nivel individual pueden transmitirse a niveles de organización superiores (Geiszinger et al., 2009; Hallgren et al., 2012) y además constituyen un riesgo para la salud humana (Argemi et al., 2005; Frye et al., 2011).

Las características climáticas y el suelo de la región pampeana resultan muy favorables para la actividad agrícola, siendo la producción de oleaginosas (principalmente soja) uno de los pilares de la economía argentina, lo que deriva, por lo tanto, en un predominio en el uso **agrícola** del suelo (Rimoldi, 2009; FAO, 2012). Esta actividad es realizada a gran escala e involucra la utilización de enormes cantidades de compuestos químicos (pesticidas y herbicidas) que alcanzan los cuerpos de agua por medio de fumigación aérea y la escorrentía de agua de lluvia, ejerciendo diversos efectos letales y subletales sobre los organismos que habitan los ecosistemas acuáticos (Montagna y Collins, 2007; CONICET, 2009; Rimoldi, 2009; Viglizzo y Jobbágy, 2006; Antoniou et al., 2012; Magbanua et al., 2013). Además de esos compuestos, el uso excesivo de fertilizantes ricos en fósforo y n tr geno suele alcanzar los cuerpos de agua por escorrentía alterando su estado tr fico (Quirós et al., 2005; Schindler y Vallentyne, 2008).

Las características de la región pampeana también resultan favorables para la cría de ganado vacuno. Más allá del enriquecimiento puntual con nutrientes y materia orgánica y del pisoteo de las macrófitas en los abrevaderos, el uso del suelo para la **ganadería extensiva** no representa una amenaza grave sobre la calidad ecológica de los cuerpos de agua. El engorde de ganado vacuno en corral o **“feed lot”**, en cambio, conlleva inevitables efectos sobre la calidad del agua y la integridad biótica, ya que aportan por escorrentía materia orgánica, nutrientes, metabolitos de hormonas, patógenos y otros compuestos (García y Iorio, 2005; Vogel et al., 2011).

La actividad **industrial** casi siempre se lleva a cabo en vinculación a un cuerpo de agua, ya sea en ciudades o en zonas más alejadas. Este uso del suelo, de no ser realizado de manera sustentable, representa uno de los mayores riesgos para la calidad ecológica de los ríos y arroyos. Entre las industrias más contaminantes se encuentran la industria papelera, las curtiembres, las textiles, petroleras y metalúrgicas (Ali y Sreekrishnan, 2001), muchas de las cuales vuelcan sin tratamiento previo residuos orgánicos e

inorgánicos altamente tóxicos que generan severos daños en el ambiente y potencialmente peligrosos para los humanos (Gonzalo y Camargo, 2013).

Otro uso frecuente del suelo muy relacionado con los cuerpos de agua es el **recreativo**; los arroyos ofrecen varias utilidades con ese fin, tales como la pesca recreativa, la navegación y áreas de esparcimiento. Entre los posibles impactos de esta actividad sobre los ecosistemas acuáticos se incluyen la destrucción de los hábitats, acumulación de basura y aumento de la turbidez más contaminación con hidrocarburos por uso de motores fuera de borda (Liddle y Scorgie, 1980).

Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en arroyos pampeanos vinculados a distintos usos del suelo (Fig. 1.3). Los usos del suelo vinculados a las cuencas de estos arroyos son:



Uso urbano: Los arroyos Martín, Rodríguez y El Gato atraviesan zonas próximas a la ciudad de La Plata con distinto grado de urbanización, estando la mayor parte de la población concentrada en el tramo medio de estos de estos arroyos. En su curso, además de recibir basura y residuos domiciliarios, también reciben efluentes de distintas industrias instaladas en sus márgenes (farmacéutica, papelería, textil, entre otras).



Uso agrícola: las cabeceras de todos los arroyos estudiados están vinculadas a distintos tipos de producción agrícola. En las nacientes de los arroyos Martín, Rodríguez y El Gato existe un intenso desarrollo de la actividad florihortícola (llevada a cabo en invernaderos), mientras que en las de los arroyos Pescado, Zapata y Buñirigo, además de esa actividad, existen áreas de cultivos de soja, trigo y maíz.



Uso ganadero extensivo: este uso del suelo predomina en las porciones media y baja de los arroyos Pescado, Zapata y Buñirigo. En algunos sectores del arroyo Zapata también existen *feed lots*.



Uso industrial: además de las mencionadas industrias instaladas en la zona urbana, los arroyos Zapata y Buñirigo también reciben efluentes de industrias alimenticias (ambos) y de una curtiembre (Buñirigo).



Uso recreativo: casi todos los arroyos no urbanos (es decir, El Pescado, Zapata y Buñirigo), constituyen, en mayor o menor medida, zonas de recreación, siendo la pesca recreativa la principal actividad en ellos.



Fig. 1.3. Área de estudio. Los círculos indican el punto de muestreo en cada arroyo. Los símbolos al costado del nombre de los arroyos indican los principales usos del suelo en sus cuencas: florihortícola (tomate), urbano (casa), industrial (fábrica), agrícola (maíz), ganadero (vaca) y recreativo (pesca).

Todos los arroyos seleccionados están incluidos entre los tributarios del Río de la Plata pertenecientes a la Gran Cuenca Del Plata, subcuenca Paranoplatense y se encuentran en la región fitogeográfica Distrito Pampeano Oriental de la región Pampeana (Frenguelli, 1956), por lo que comparten ciertas características que han sido descriptas por Godz *et al.* (1983): cabeceras y/o cursos semipermanentes, recorrido meandroso, escasa pendiente, mayormente someros, fondo limosoide o arcilloso, elevada turbidez, abundantes detritos orgánicos, elevada concentración de ácidos húmicos y fúlvicos, elevada dureza, salinidad variable (dependiente de la evapotranspiración, el contacto con

aguas subterráneas, y distancia al Río de la Plata) y aporte de detrito vegetal de origen alóctono. Sumado a esto, muchos arroyos de esta región se presentan escasa velocidad de corriente, alta carga natural de nutrientes, ausencia de bosques riparios y desarrollo de densas y diversas matas de macrófitas sumergidas, flotantes y emergentes (Giorgi *et al.*, 2005), aunque en algunos arroyos la vegetación acuática puede estar ausente. Entre las macrófitas sumergidas mejor representadas se encuentran *Ceratophyllum demersum*, *Myriophyllum acuaticum*, *Stukenia striata*, *Potamogeton* sp. y *Chara* sp., mientras que entre las flotantes más frecuentes hay algunas lemnáceas (*Lemna*, *Spirodella*) e *Hydrocleys nymphoides*. Las macrófitas emergentes suelen encontrarse en las orillas y bañados formando manchones de *Sagittaria montevidiense*, juncuales (*Schoenoplectus californicus*), totorales (*Typha dominguensis*) y pajonales de cortaderas. El desarrollo de distintos tipos de macrófitas promueve la generación de microhábitats que favorecen al establecimiento de comunidades de macroinvertebrados, brindándoles alimento y refugio (Würdig *et al.*, 2007; Giorgi *et al.*, 2005).

El clima de esta región es templado cálido subhúmedo, con una temperatura media anual que oscila entre los 13 y 16°C. Las lluvias ocurren a lo largo de todo el año con un régimen pluviométrico isohigro y precipitaciones medias anuales cercanas a los 1000 mm (Rodrigues Capítulo y Gómez, 2003). Cada 3-7 años suelen ocurrir episodios de sequías alternadas con grandes inundaciones que desbordan el cauce de estos arroyos (Fig. 1.4) lo que permite la conexión entre cuencas vecinas (Maiola *et al.*, 2003)



Fig. 1. 4. Arroyo Pescado (a la altura de Ruta Provincial N° 11) durante la inundación (izquierda), con caudal normal (centro) y durante un período seco (derecha).

Especies seleccionadas para este estudio

Para el presente estudio se seleccionaron dos especies ampliamente representadas en la mayoría de los cuerpos de agua dulce pampeanos, tanto por su abundancia como por su biomasa: *Pomacea canaliculata* Lamark, 1822 (Mollusca: Gastropoda: Ampulariidae) y *Hyalella curvispina* Shoemaker, 1942 (Crustacea: Amphipoda: Gammaridea).

⊙ Antecedentes de *Pomacea canaliculata*

Pomacea canaliculata es una especie tropical a subtropical perteneciente al grupo de caracoles operculados comúnmente llamados “caracoles manzana”. Esta especie está naturalmente distribuida en la Cuenca Del Plata y Amazonas, por lo que sus ejemplares pueden hallarse en Brasil, Bolivia, Paraguay, Argentina y Uruguay. En Argentina, se distribuye principalmente en la zona norte central, hallándose la población estable más austral en el embalse Paso de las Piedras (38° 24’S) (Martín *et al.*, 2001; Rumi *et al.*, 2008). *Pomacea canaliculata* es una especie que se encuentra en un amplio rango de condiciones ambientales, aunque la temperatura, la velocidad de la corriente, la salinidad del agua y la cobertura y riqueza vegetal constituyen las principales variables que determinan su distribución natural (Martín *et al.*, 2001; Martín y Esetebenet, 2002). Asimismo, el gavilán caracolero (*Rostrhamus sociabilis*) posiblemente se su principal enemigo natural, encargado de la regulación de las poblaciones de este caracol (Joshi y Sebastian, 2006). Sin embargo, en ausencia de estos mecanismos naturales de regulación poblacional, este caracol presenta un fuerte potencial de expansión y elevada supervivencia que la han llevado a convertirse en una de las 100 especies invasoras más importantes del planeta (Lowe *et al.*, 2000). Esta problemática surgió porque a fines de los ‘70, *P. canaliculata* fue introducida en Taiwán para la acuicultura con el fin de obtener un alimento rico en proteínas; pero la falta de mercado condujo al abandono de esos cultivos, a partir de los cuales comenzó la rápida expansión de este caracol por Asia (Chang 1985, Cowie *et al.* 2006, Hayes *et al.* 2008). Actualmente, *P. canaliculata* y otros ampuláridos emparentados han expandido su distribución por gran parte de Asia y Oceanía, España (Delta del Río Ebro), y Estados Unidos (en estados de California, Alabama, Texas, Florida y Hawaii) (Fig. 1.5), provocando pérdidas millonarias en la producción de arroz y otros cultivos. Pero esta situación no sólo involucra importantes pérdidas

económicas, sino que también implica riesgos sanitarios y ecológicos; *sanitarios* porque se ha documentado como una de las especies vectoras de *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935), parásito que produce la llamada meningitis eosinófila (Lv et al., 2009 a y b), y *ecológicos* porque ha causado severas modificaciones en los ecosistemas invadidos, incluyendo la disminución en la cobertura, biomasa y diversidad de macrófitas y la consecuente alteración del ciclado de materia orgánica y nutrientes (Carlsson et al., 2004 a; Carlsson y Brönkmark, 2006; Qiu y Kwong, 2009). Al mismo tiempo, *P. canaliculata* representa una amenaza para la supervivencia de otras especies de gasterópodos nativos en las zonas que invade (Rawlings et al., 2007; Kwong et al., 2009). Recientemente se comprobó en China que puede llegar a consumir importantes cantidades de huevos de algunas especies de anfibios, constituyendo una amenaza para las poblaciones de esas especies y para la homeorresis de esos ecosistemas (Karraker y Dudgeon, 2014).

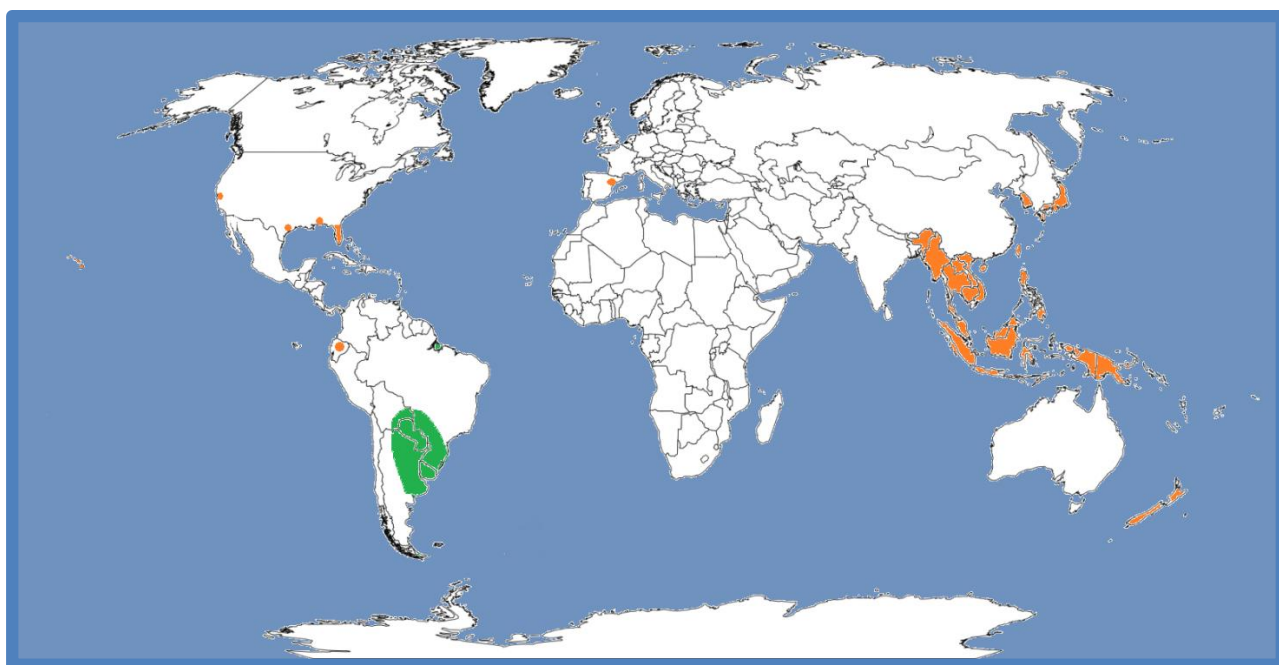


Fig. 1.5. Distribución actual de *Pomacea canaliculata* y otros ampuláridos emparentados. En verde se indican los sitios en los que es nativa y en naranja en los que es invasora (Fuente: Joshi y Sebastian, 2006, López Soriano et al., 2009, Martin et al., 2012 y <http://www.gisin.org>)

Gracias a su fuerte carácter invasor, el estudio de *P. canaliculata* ha dado lugar a numerosas investigaciones que exploran diversos aspectos de su biología, ecología y fisiología, varios de los cuales fueron contemplados para la realización de esta investigación:

- su preferencia por cuerpos de agua someros, con escasa velocidad de corriente y abundante vegetación acuática (Estebenet y Martín; 2002), lo cual facilita encontrarlos en los arroyos de la zona;
- conspicuas masas de huevos depositadas sobre la vegetación u otras superficies (Rowlings *et al.*, 2007), las cuales son fáciles de distinguir y pueden ser transportadas al laboratorio para distintos análisis;
- la disminución de su actividad con las bajas temperaturas, que los lleva a enterrarse en el sedimento durante largos períodos (Oya *et al.*, 1987; Cowie, 2002) y determina el momento del año en el que puede hallarse la especie en el campo;
- período reproductivo entre fines de la primavera y principios del otoño (Estebenet y Martín; 2002);
- el dimorfismo sexual evidente (Estebenet y Cazzaniga, 1998), lo que facilita el cálculo de proporción de sexos;
- Cópulas de larga duración (Burela y Martín, 2009), lo que permite hallar parejas en cópula en el campo.

Joshi y Sebastian (2006) proveen una revisión muy completa de la taxonomía, distribución, impacto ecológico y económico de *P. canaliculata* y otros ampuláridos invasores, tanto con relación a sus áreas naturales de distribución como a aquellas que han sido invadidas. Sin embargo, los antecedentes respecto a los efectos de los distintos disturbios antropogénicos sobre las poblaciones naturales de este caracol son prácticamente nulos, limitándose a una investigación llevada a cabo en Taiwán en la que se evaluaron los efectos de la actividad agrícola sobre ciertos rasgos bioquímicos de caracoles provenientes de campos cultivados con arroz (Chiu *et al.*, 2014). Por lo tanto, la presente tesis doctoral pretende aportar información respecto a la relación existente entre las poblaciones naturales de *P. canaliculata* y los usos del suelo que se realizan en las cuencas relevadas.

◉ Antecedentes de *Hyalella curvispina*

Hyalella curvispina es un anfípodo ampliamente distribuido en cuerpos de agua dulce de Sudamérica, principalmente en el Sur de Brasil, Uruguay y Argentina (Lopretto, 1995). Esta especie puede llegar a constituir una buena parte de la biomasa de invertebrados del pleuston y el bentos de los ambientes en los que habita y cumple un importante rol ecológico, tanto en el ciclado de la materia orgánica como en las redes tróficas (Saigo *et al.*, 2009; López van Oosterom *et al.*, 2013). Además de su importancia ecológica, este anfípodo es considerado una herramienta sensible de vigilancia ambiental por exhibir elevada sensibilidad a diversos contaminantes (Di Marzio *et al.*, 1999; García *et al.*, 2010; Mugni *et al.*, 2013; Giusto *et al.*, 2014). Pese a su destacada importancia, la información sobre su biología y ecología poblacional en la actualidad es escasa y fragmentaria, por lo que la presente investigación pretende aportar información en esos aspectos al mismo tiempo que se analizan en función de los usos del suelo que afectan su entorno.

En esta tesis se analizaron los rasgos poblacionales de las especies *P. canaliculata* y *H. curvispina* presentes en arroyos pampeanos cuyas cuencas están vinculadas a distintos usos del suelo (urbano, agrícola, ganadero e industrial). La calidad del agua de los arroyos fue definida en función de los parámetros físico-químicos del agua, la calidad del hábitat físico y la calidad biótica. Esta última se evaluó utilizando índices bióticos y de diversidad, además de contemplar las abundancias de taxa sensibles, tolerantes y muy tolerantes. Los rasgos poblacionales de las dos especies mencionadas se interpretaron en función de la calidad ecológica de los arroyos, explorando la posibilidad de obtener a partir de ellos nuevos descriptores no taxonómicos de la calidad del agua. Al mismo tiempo, se estudió la bioquímica de *P. canaliculata* (contenidos de lípidos, proteínas e hidratos de carbono) en huevos, glándula de albumen y glándula digestiva, con el objeto de complementar la información obtenida a partir de los rasgos poblacionales. También se realizó una experiencia de exposición *in situ* de neonatos de *P. canaliculata* en tres arroyos periurbanos (con distinto grado impacto antropogénico) con el fin de evaluar su potencial uso en estudios de calidad del agua y monitoreo. En la figura 1.6 se exhibe un esquema resumen de las distintas respuestas estructurales y funcionales de la biota analizadas a distintos niveles de organización en esta tesis (recuadros violetas) y las relaciones que existen entre ellas (flechas).

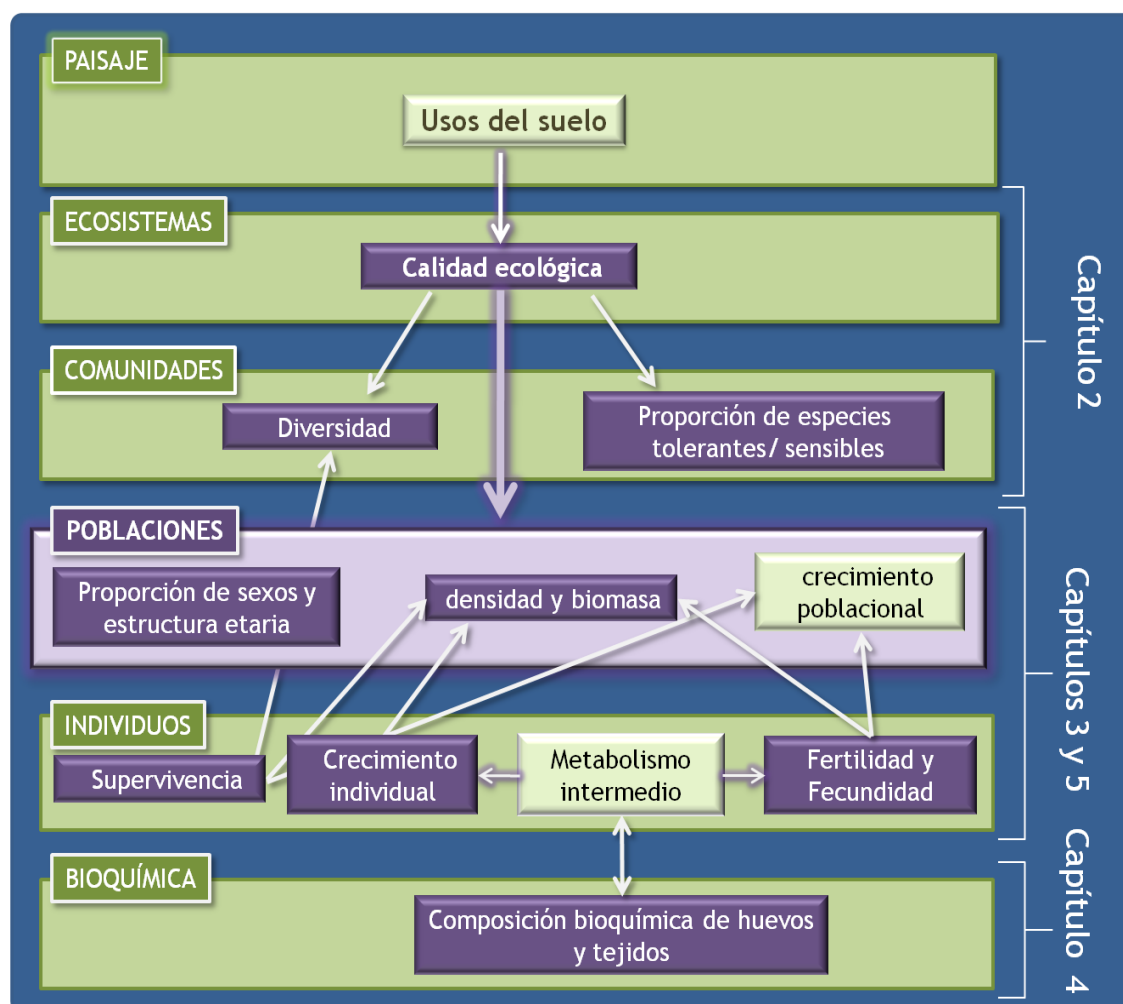


Fig. 1.6. Esquema de los distintos aspectos abordados en esta tesis y los vínculos existentes entre ellos

HIPOTESIS GENERAL

Algunos rasgos poblacionales de macroinvertebrados acuáticos pueden ser utilizados en la evaluación de la calidad del agua de arroyos pampeanos vinculados a distintos usos del suelo. *Hyaella curvispina* y *Pomacea canaliculata* constituyen dos especies apropiadas para el estudio de esos rasgos.

OBJETIVOS

⊙ Describir la calidad del agua (calidad ecológica) de los arroyos seleccionados en términos físico-químicos, características del hábitat e índices biológicos (capítulo 2).

⊙ Estudiar los rasgos poblacionales (densidad, biomasa, fecundidad, fertilidad, estructura etaria, proporción de sexos, supervivencia y crecimiento) de *P. canaliculata* y *H. curvispina* y analizarlos con relación a la calidad del agua (capítulo 3).

⊙ Obtener nuevos descriptores no taxonómicos para la evaluación de la calidad del agua de cuerpos lóticos pampeanos:

- A partir de rasgos biológicos poblacionales (capítulo 3)
- A partir de rasgos bioquímicos (Capítulo 4)
- A partir de ensayos de exposición *in situ* (capítulo 5)

A.C. Ferreira
Tesis Doctoral

2015



EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA DE LOS ARROYOS

Capítulo 2: EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA DE LOS ARROYOS

INTRODUCCIÓN

La calidad del agua de los cuerpos lóticos pampeanos ha sido explorada desde diversas perspectivas, abarcando tanto aspectos estructurales como funcionales de los ecosistemas. En la tabla 2.1 se muestran algunos ejemplos de investigaciones llevadas a cabo en esta región y los aspectos abordados en ellas respecto al análisis de la calidad del agua.

En este capítulo se evalúa la calidad del agua de cuatro arroyos pampeanos tributarios del Río de La Plata que están vinculados a distintos usos del suelo. Si bien en sentido estricto la calidad del agua puede definirse en base a las características físico-químicas, en este capítulo se hace referencia a la calidad del agua en un sentido más amplio, como sinónimo de la calidad ecológica del cuerpo de agua (ver Capítulo 1). Esto implica que, además de medirse los parámetros físico-químicos, se consideran las características del hábitat y la calidad biótica, definiendo esta última a través de distintos índices bióticos y teniendo en cuenta las abundancias de taxa sensibles y tolerantes. La información obtenida será tomada como punto de partida para las comparaciones realizadas en los capítulos 3 y 4 de esta tesis.

Tabla 2.1. Investigaciones que exploran la calidad del agua de cuerpos lóticos pampeanos desde distintas perspectivas. E: respuestas de tipo estructural (taxonómica) y F: respuestas funcionales.

Variables estudiadas	compartimento/grupo taxonómico	Respuestas	Referencias
Físico-químicas	Agua	-	Topalián <i>et al.</i> , 1999; Mercado, 2000; Magdaleno <i>et al.</i> , 2001; Ronco <i>et al.</i> , 2001
Índices bióticos	Macroinvertebrados	E	Rodrigues Capítulo <i>et al.</i> , 2001
	Diatomeas		Gómez y Licursi, 2001
Composición taxonómica		E	
Índices bióticos		E	Modenutti, 1987; Mercado, 2001; Bauer <i>et al.</i> , 2002; Licursi y Gómez, 2002
Grupos funcionales	Fitoplancton	F	
Tamaño celular		F	
Índices bióticos	Macroinvertebrados	E	Graça <i>et al.</i> , 2002; García, 2008; Ambrosio <i>et al.</i> , 2014.
Supervivencia/ crecimiento	Crustáceos	F	
Índices bióticos	Macroinvertebrados y	E	Rodrigues Capítulo y Gómez, 2003
Grupos funcionales	diatomeas	F	
Toxicidad de sedimentos	Sedimentos/anfípodos	F	Di Marzio <i>et al.</i> , 2005
Composición/abundancia	Macrófitas	E	Feijoó y Lombardo, 2007
Composición taxonómica		E	
Metabolismo	Biofilm	F	Sierra, 2008
Grupos funcionales	Macroinvertebrados	F	Cortelezzi, 2010
Índices bióticos		E	
Malformaciones	Quironómidos	F	Cortelezzi <i>et al.</i> , 2011
Índices bióticos	Peces	E	Paracampo, 2012
Redes tróficas	Macroinvertebrados	F	López van Oosterom, 2014 Ocón <i>et al.</i> , 2013

- ⊙ **Hipótesis:** Las actividades antrópicas, según los diferentes usos del suelo, modifican la calidad del agua. Esto se refleja tanto en las variables físico-químicas del agua como en la calidad del hábitat y las características de la biota de macroinvertebrados.

⊙ *Objetivos:*

- Evaluar la calidad del agua (o calidad ecológica) de los arroyos en términos de características físico-químicas del agua, calidad del hábitat físico y calidad biótica.
- Comparar la calidad ecológica de los arroyos en función del uso del suelo al cual cada uno está vinculado.

Área de estudio

Se seleccionaron cuatro arroyos pampeanos con cuencas sometidas a distintos usos de suelo: el arroyo periurbano Martín y los arroyos rurales Pescado, Zapata y Buñirigo. En cada uno se estableció un sitio de muestreo teniendo en cuenta que estuvieran representadas las especies objeto de este estudio (*P. canaliculata* y *H. curvispina*), que se dispusiera de antecedentes respecto a la calidad sus aguas, que fueran de fácil acceso y que estuvieran a similar distancia del Río de La Plata (10 km aproximadamente) para garantizar que el efecto del ingreso de marea sea similar en todos.

Arroyo Martín

El arroyo Martín es un curso de agua de unos 14,5 km de longitud con rumbo N-S (Hurtado *et al.*, 2006). Nace en la localidad de Hernández, a la altura de la ruta provincial 36, área en la que existe un fuerte desarrollo de la actividad florihortícola. A partir del curso medio, sus características morfológicas han sido modificadas a través del dragado generando riberas de gran pendiente y predominio de sedimentos gruesos y tosca. Además, con el objeto de mejorar el flujo del agua durante los episodios de intensas precipitaciones, el cauce es sometido a regulares limpiezas (remoción de la vegetación acuática y ribereña) que modifican el hábitat en gran manera. En este sector, el arroyo atraviesa una zona poblada que aporta a la cuenca desechos domiciliarios, basura y descargas industriales (Cortelezzi, 2010). En su curso inferior, previamente a la confluencia de este arroyo con el arroyo Carnaval, el arroyo Martín atraviesa el Parque Ecológico de La Plata, una dependencia municipal que constituye una zona recreativa y de conservación de la naturaleza. Para el presente estudio se delimitó un tramo de

aproximadamente 50 m a la altura del cauce medio, previo al ingreso del arroyo en el Parque Ecológico, al que se denominó “Martín sitio 1” (el sitio 2 será descripto en el capítulo 5).

Arroyo El Pescado

La cuenca del arroyo El Pescado posee aproximadamente 625 km² y su cauce principal posee unos 32 km de longitud. En las cabeceras de sus principales afluentes (arroyo El Sauce y Sin Nombre) existe un intenso desarrollo de la actividad agrícola y florihortícola en invernaderos, actividades que contaminan las aguas con nutrientes, herbicidas y pesticidas (Ronco *et al.*, 2008). No obstante, la presencia de un extenso bañado aguas debajo de la confluencia de estos tributarios (considerado aquí como tramo medio del arroyo), determinan una notable mejora en la calidad del agua hasta su desembocadura en el Río de la Plata (Mugni, 2008), al punto que esta cuenca fue declarada Paisaje Protegido de interés provincial en el año 2005 (ley 12.247). Esta condición favorece la generación de áreas de esparcimiento en torno al arroyo. Dado su grado de naturalidad (Machado, 2004; Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001; Graça *et al.*, 2002; Rodrigues Capítulo y Gómez, 2003; Mugni, 2008; Paracampo, 2012; Cortelezzi *et al.*, 2013), este arroyo fue considerado como arroyo de referencia.

El punto de muestreo seleccionado para la presente investigación se sitúa en la intersección del arroyo con la Ruta Provincial N°11. En este punto, del curso principal se desprende un meandro natural con abundante desarrollo de vegetación acuática, lo cual resulta en condiciones favorables para el establecimiento de una elevada diversidad de macroinvertebrados. Para este estudio se delimitó un tramo de aproximadamente 50 m de longitud en este meandro.

Arroyo Zapata

El arroyo Zapata posee una cuenca aproximada de 135 km² y 23 km de longitud. En las cabeceras, el arroyo recibe residuos vinculados a diversas actividades: agrícola, ganadera, avícola, efluentes domésticos de Gral. Mansilla (2000 habitantes) y descargas de industrias alimenticias (Paracampo, 2012). En los tramos medio e inferior, en cambio, predomina la actividad ganadera extensiva e intensiva. A diferencia de los demás arroyos

estudiados, su desembocadura es difusa y se abre paso a través de los humedales riparios de la planicie aluvial del Río de la Plata.

El sitio de estudio de este arroyo también se determinó en su intersección con la Ruta Provincial N° 11, a la altura del tramo medio. En este punto, el curso principal posee aproximadamente 1 m de profundidad y 15 m de ancho, y la calidad del agua se encuentra empobrecida por el enriquecimiento con nutrientes causado por las actividades realizadas aguas arriba (Mugni 2008; Paracampo, 2012). Para la presente investigación se seleccionó un tramo de 50 m de longitud conectado inmediatamente al curso principal (ver ficha del arroyo Zapata al final de este capítulo).

Arroyo Buñirigo.

El arroyo Buñirigo tiene una extensión aproximada de 36 km. Si bien en el tramo superior existen algunos cultivos agrícolas, en el resto de la cuenca predomina el uso ganadero del suelo. En el segmento medio inferior, en las proximidades de la ciudad de Magdalena, este cuerpo lótico recibe los efluentes industriales (industrias curtiembre e industria de alimentos), notándose un importante deterioro de la calidad del agua a partir de este punto hasta su desembocadura en el Río de La Plata (Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001; Bauer *et al.*, 2002; Rodrigues Capítulo y Gómez, 2003; García, 2008; Paracampo, 2012). Para el presente estudio se delimitó un tramo de aproximadamente 50 metros aledaño a la RP N° 11, en la zona de las descargas industriales. Durante el período de realización de esta investigación se llevó a cabo la construcción de un nuevo puente sobre la ruta que cambió temporalmente algunas características del arroyo (Fig. 2.1).



Fig. 2.1. Aspecto sitio de muestreo en el Arroyo Buñirigo aguas arriba y aguas abajo antes y después de la construcción del puente sobre la ruta.

MATERIALES Y MÉTODOS

En cada arroyo, los tramos seleccionados fueron muestreados en tres oportunidades: en noviembre de 2009, marzo de 2010 y noviembre de 2010. En cada muestreo se analizó la calidad del agua en términos de las variables físico-químicas del agua, la calidad del hábitat y la calidad biótica. A continuación se describe la metodología empleada para cada una de estas determinaciones.

Características físico-químicas del agua

En cada muestreo se registraron *in situ* y por triplicado los valores de temperatura, pH, conductividad, turbidez y oxígeno disuelto del agua con un sensor multiparamétrico (Horiba U10). Al mismo tiempo se tomaron muestras de agua (una por arroyo en cada muestreo) que fueron procesadas por personal especializado del laboratorio de química del ILPLA para la medición de las demandas biológica y bioquímica de oxígeno (DBO₅, según método APHA 5210 B; DQO, por oxidación con dicromato de potasio en medio ácido

con reflujo cerrado, DIN ISO 15705-H45) y para la determinación de concentraciones de nutrientes de nitrógeno y fósforo (nitratos, nitritos, amonio y fosfatos, expresados como fósforo reactivo soluble o PRS). Para la determinación de las concentraciones de nitratos se utilizó el método APHA 4500-NO₃⁻ E, para las de nitritos APHA 4500-NO₂⁻ B, para las de amonio APHA 4500-NH₃ F y para las de fósforo, APHA 4500-P E (APHA, 1998).

Las diferencias entre arroyos en términos de estas variables se examinaron mediante ANOVA a una vía con un nivel de significancia de 0,05. Las diferencias significativas se analizaron *a posteriori* con el test de Student-Neuman-Keuls (SNK).

Con el fin de separar los arroyos en bases a sus características físico-químicas se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con un software para procesamiento de datos estadísticos. La estandarización aplicada a los datos fue:

$$\frac{x_i - \bar{x}_i}{sd_i}$$

Donde x_i es el valor de la variable i , \bar{x}_i es el promedio para esa variable y sd_i es el desvío estándar de i .

Calidad del hábitat físico.

Las variables del hábitat físico medidas fueron: ancho mojado, profundidad, velocidad de la corriente, cobertura y diversidad vegetal y contenido de materia orgánica en el sedimento. Todas estas variables se registraron por triplicado en cada arroyo para cada fecha de muestreo. En las fichas de los arroyos que se adjuntan al final de este capítulo se exhiben los valores promedio de esas mediciones.

En cada arroyo se establecieron al menos 3 puntos en donde se midieron el ancho mojado y profundidad del cauce en sección transversal. El **ancho mojado** se midió con una cinta métrica, registrándose la **profundidad** cada 1 metro mediante el empleo de una vara de 1,5 m graduada en centímetros. En el arroyo Buñirigo no pudo determinarse la profundidad en toda la sección transversal del tramo porque en el centro del cauce ésta era mayor a la que se podía medir con el método empleado, por lo que los valores que se muestran en la ficha corresponden a los de las márgenes (en donde se tomaron las muestras biológicas). La **velocidad de la corriente** fue medida entre la vegetación y en zonas libre de la misma con un caudalímetro digital (Mini Water 20; rango de medición entre 0,02 y 5 m/s).

La mayoría de las especies de macrófitas se determinaron en campo, estimándose sus coberturas mediante un mapeo visual. Aquellas plantas que no pudieron determinarse *in situ* fueron transportadas al laboratorio donde se clasificaron mediante la bibliografía adecuada (Lahitte *et al.*, 1997; IBODA, 2012). También se tomaron fotografías de los tramos estudiados que fueron examinadas con un software de procesamiento de imágenes para calcular las proporciones de zonas con **cobertura vegetal** y con agua libre de vegetación (LV). Las plantas fueron clasificadas de acuerdo a Lahitte *et al.* (1997) en:

- **Acuáticas sumergidas (S):** son aquellas que viven por debajo de la superficie del agua, aunque pueden presentar partes emergentes (ápices de tallos, hojas o flores). Ejemplo: *Egeria densa* (Fig. 2.2 a)
- **Acuáticas flotantes (F):** son plantas que poseen una parte sumergida (comúnmente las raíces) y otra emergente. Suelen poseer un aerénquima bien desarrollado que favorece la flotación. Pueden ser libres (como *Azolla filiculoides*; Fig. 2.2 b) o arraigadas al fondo (ej.: *Althernanthera philoxeroides*; Fig. 2.2 c).
- **Palustres (P):** este tipo de plantas poseen un rizoma sumergido y enterrado en el barro, el cual constituye el órgano de fijación sostén y reserva a partir del cual salen las partes emergentes de la planta (tallos, hojas, flores). Ejemplo: *Sagittaria montevidiensis* (Fig. 2.2 d).



Fig. 2.2. Ejemplos de los tipos de plantas encontradas en los arroyos. a. Manchón de *Egeria densa* (sumergida); b. *Azolla filiculoides* (flotante no arraigada); c. *Althernanthera philoxeroides* (flotante arraigada); *Sagittaria montevidiensis* (palustre). Clasificación según Lahitte *et al.* (1997).

La **cobertura relativa** de cada especie vegetal se calculó en función de la cobertura vegetal total:

$$\% \text{ cob relat} = \frac{\% \text{ cob}_i * \% \text{ cob}_t}{100\%}$$

Donde cob_i es la cobertura de la especie i y cob_t la cobertura total. En base a estas abundancias se calculó la diversidad vegetal (índice de Shannon-Wiener) mediante el software Past 3.0.

Para la determinación del contenido de **materia orgánica en el sedimento** (%MO), se obtuvieron alícuotas de las muestras bentónicas que fueron secadas en estufa a 60°C hasta obtener peso constante (**PS**) (aproximadamente 48 hs) y luego se calcinaron a 500 °C durante 4 horas obteniéndose el peso seco libre de cenizas (**AFDW**). El %MO fue calculado como:

$$\%MO = \frac{(PS - AFDW) \times 100}{PS}$$

Se realizó un análisis de correlación entre la cobertura vegetal y el %MO en el sedimento.

También se tomó una muestra de sedimentos de cada arroyo para conocer sus niveles de metales pesados, herbicidas y pesticidas organoclorados y organofosforados (POCl y POF, respectivamente). Tales muestras fueron analizadas en un laboratorio especializado (laboratorio de análisis químicos C&D, La Plata) mediante los métodos especificados en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Métodos empleados en la determinación del contenido de metales pesados, pesticidas y herbicidas en el sedimento de los arroyos.

Variabes medidas	Métodos
Zinc	Espectrometría de absorción atómica (AAS)
Níquel	
Cromo	
Cadmio	
Cobre	
Plomo	
Pesticidas organoclorados (POCl)	Cromatografía gaseosa (GC-ECD)
Pesticidas organofosforados (POF)	
Herbicidas	Cromatografía gaseosa (GC - NPD)

Calidad biótica

Se realizaron tres muestreos de los ensambles de macroinvertebrados en noviembre de 2009, marzo de 2010 y noviembre de 2010. Las muestras fueron tomadas por triplicado en el sedimento con una draga Eckman de 100 cm² de superficie y entre la vegetación con un tamiz de 500 µm de apertura de malla y 21 cm de diámetro (cada réplica consistió en 10 pasadas de tamiz entre la vegetación; Fig. 2.3). Todas las muestras se fijaron *in situ* con formaldehído al 5% para posterior procesamiento en el laboratorio.



Fig. 2.3. Toma de muestras de macroinvertebrados entre un manchón de vegetación.

Una vez en el laboratorio, tanto las muestras de sedimento como las tomadas entre la vegetación fueron lavadas utilizando tamices de 500 µm de apertura de malla para la retención de los macroinvertebrados), teñidas con eritrosina B y conservadas en formaldehído al 5%. (Rodrigues Capítulo *et al.*, 2009). Posteriormente, el material retenido se observó bajo lupa binocular y se separaron los macroinvertebrados determinándolos hasta el menor nivel taxonómico posible con ayuda de la bibliografía (Lopretto y Tell, 1995; Merrit y Cummins, 1996; Domínguez y Fernández, 2009).

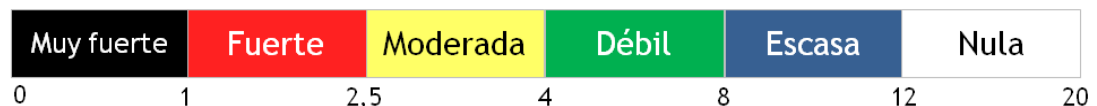
Los taxa fueron clasificados como “sensibles”, “tolerantes” y “muy tolerantes” de acuerdo a la bibliografía disponible (Hilsenhoff, 1987; Barbour *et al.*, 1999; Rodrigues Capítulo, 1999; Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001). En las tablas A.1-3 del Anexo I, se exhiben los valores de tolerancia (V.T.) adjudicados a cada taxa (valores entre 1 y 3: sensibles; entre 4 y 7: tolerantes y entre 8 y 10: muy tolerantes). En los resultados se exhiben las abundancias relativas promedio de cada categoría.

Para cada taxa se calculó su densidad y abundancia relativa y luego se procedió al cálculo de los distintos índices bióticos (tabla 2.3). Los índices de riqueza, diversidad y equitabilidad se calcularon utilizando el software Past 3.0, mientras que el Índice para Macroinvertebrados de Ríos Pampeanos (IMRP) y el Índice Biótico Pampeano (IBPamp) se calcularon manualmente según Rodrigues Capítulo, (1999) y Rodrigues Capítulo *et al.* (2001).

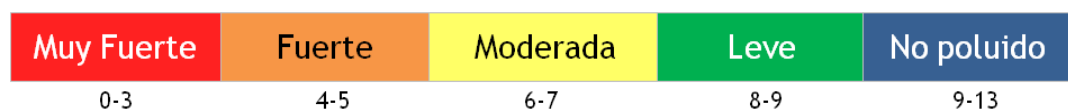
Tabla 2.3. Índices bióticos calculados para los arroyos.

INDICE	CALCULO	UNIDAD	OBSERVACIONES
Riqueza	$S = \sum i$	N° taxa	i : taxa
Diversidad (Shannon-Wiener)	$H' = \sum_i \frac{n_i}{n} \log \frac{n_i}{n}$	bits/ind	n_i : N° de ind de la especie i en la muestra n : N° total de ind en la muestra
Equitabilidad	$J = \frac{H'}{H'_{max}}$	-	H' : valor del índice de diversidad
IMRP	$\sum V_x$	-	V_x : Valor de sensibilidad del taxa x
IBPamp	$\sum US_i$	-	US_i : unidades Sistemáticas del grupo animal i

Para el cálculo del índice **IMPRP** debe determinarse previamente el valor de sensibilidad de las taxa (valores entre 0,1 para los menos sensibles y 2 los más sensibles) y luego realizar la sumatoria de estos, obteniendo un puntaje que adquiere valores entre 0 y 20; según dentro de qué rango caiga el valor calculado para el cuerpo de agua en cuestión, se le adjudica un *grado de contaminación* que se representa gráficamente con un color como se indica a continuación:



De manera similar, el **IBPamp** se basa en la sensibilidad conocida de determinados taxa (ver detalles en Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001) y adquiere valores entre 0 y 13. Los puntajes obtenidos corresponden a distintos *niveles de polución*, que son representados con distintos colores:



Las diferencias estadísticas en los valores de densidad e índices bióticos entre los arroyos y entre ambientes (sedimento y vegetación) se exploraron mediante ANOVA de una vía (Factor: Arroyo) con un grado de significancia de 0,05. También se calculó la correlación (Pearson) entre la diversidad y la cobertura vegetal de los distintos tipos de plantas.

Con el objeto de comparar la calidad biótica de los cuatro arroyos y cotejarla con los resultados de la calidad del agua, se realizó un análisis de clusters (distancias euclidianas) con un software de procesamiento de datos estadísticos utilizando los valores promedio de los índices bióticos calculados para cada arroyo: densidad, riqueza, diversidad, equitabilidad, IMRP e IBPamp. Este análisis arroja un dendrograma en el que la distancia de los nodos es inversamente proporcional a la similitud entre sitios, de modo que a mayor similitud, menor distancia.

RESULTADOS

Características físico-químicas del agua

Los valores de las variables físico-químicas del agua que mostraron mayor variación entre los sitios estudiados se exhiben en la figura 2.4 (a-i). Si bien en estos gráficos se observan algunas diferencias espaciales, en general las variables analizadas no exhibieron diferencias estadísticamente significativas entre los arroyos, salvo la turbidez, que presentó el mayor valor promedio en el arroyo Buñirigo (247 ± 110 NTU, $p = 0,017$) y las concentraciones de PRS ($p = 0,001$) y nitritos ($p = 0,012$), que fueron más elevadas en el arroyo periurbano Martín ($0,6 \pm 0,1$ mg P/L y $0,03$ mg N/L, respectivamente). La temperatura media del agua fue similar en todos los arroyos (fig. 2.4 a) y adquirió un valor promedio de 23 ± 2 °C. Asimismo, el pH fue ligeramente básico ($7,8 \pm 0,7$) y no presentó grandes diferencias entre arroyos. Por otra parte, si bien las diferencias en los valores de conductividad no fueron estadísticamente significativas, el arroyo periurbano Martín presentó los valores más bajos de esta variable (374 ± 118 μ S/cm en el Martín frente a un promedio de 1000 ± 380 μ S/cm en los restantes arroyos). El oxígeno disuelto en el agua exhibió un valor promedio entre arroyos de $8,1 \pm 2,0$ mg/L. Las demandas de oxígeno tampoco evidenciaron diferencias espaciales significativas, aunque se destaca que el menor valor medio de DBO_5 se registró en el arroyo El Pescado, utilizado como referencia, ($0,8 \pm 0,8$ mg O_2 /L frente a valores medios mayores a 2 mg O_2 /L en los demás arroyos). Las concentraciones de los nutrientes (de fósforo y nitrógeno), tendieron a disminuir latitudinalmente desde el arroyo Martín hacia el Buñirigo, pero sólo se hallaron diferencias significativas en los mencionados previamente.

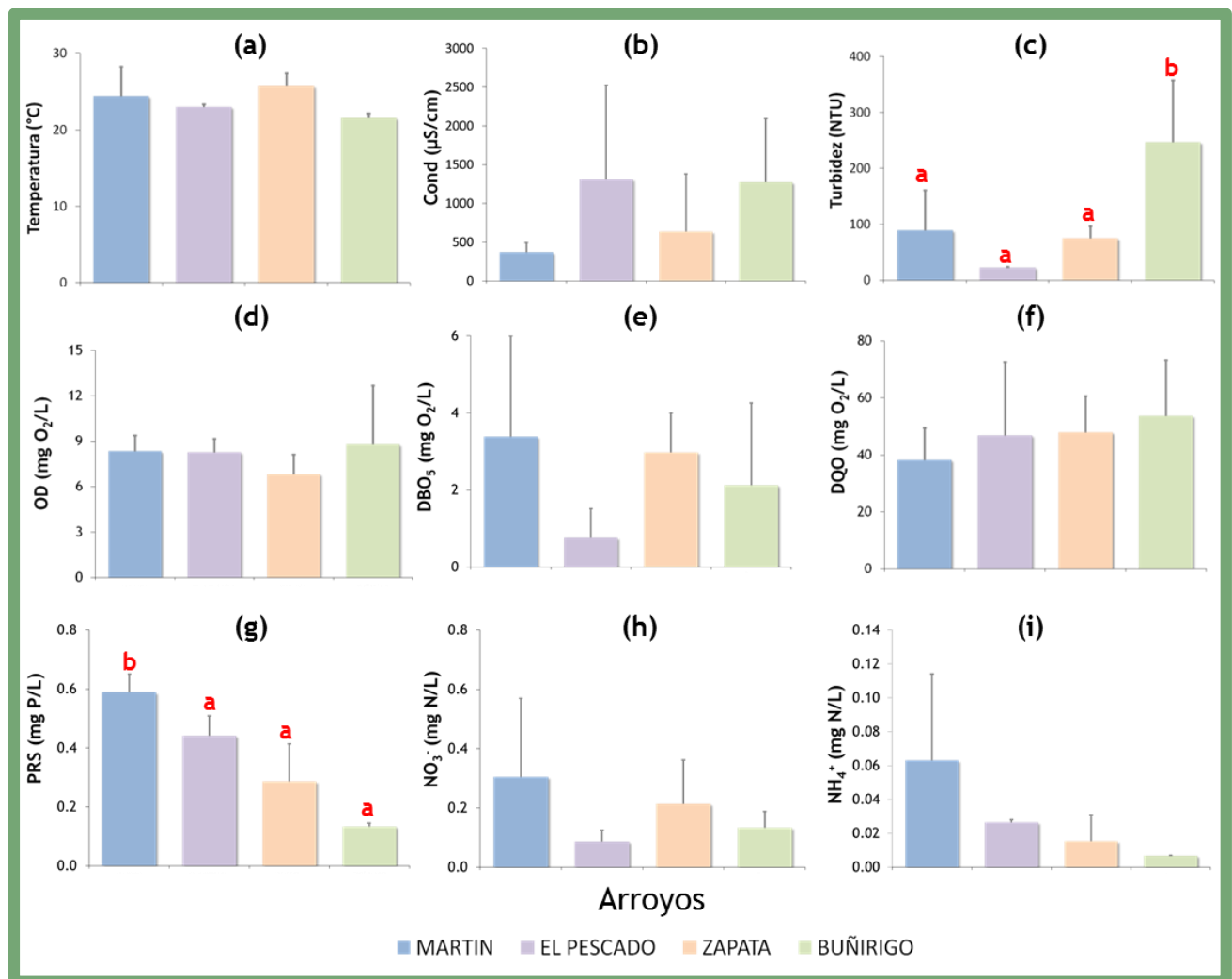


Fig. 2.4. Valores medios de algunas de las variables físico-químicas medidas en el agua de los arroyos. (a) Temperatura, (b) Conductividad, (c) Turbidez, (d) Oxígeno Disuelto, (e) Demanda bioquímica de oxígeno, (f) Demanda química de oxígeno, (g) Fosfatos, (h) Nitratos, (i) Amonio. Las letras en rojo sobre las barras indican las diferencias significativas entre arroyos ($p < 0,05$).

El ordenamiento de los arroyos obtenido a partir del ACP en función de las características físico-químicas del agua se presenta en la figura 2.5. Los dos primeros ejes explicaron cerca del 54% de la variabilidad (F1: 29%; F2: 26%). Las variables temperatura, conductividad, nitrato y amonio aportaron el 69% de la variabilidad del factor 1 (F1), mientras que el fostato, los nitritos y la DQO aportaron el 69% de la variabilidad al factor 2 (F2). El APC separa claramente los arroyos, con el arroyo Martín ubicado en el cuadrante superior derecho, vinculado principalmente a los nutrientes y con grandes desvíos tanto en el F1 como en el F2 (aunque mayor en el primero que en el segundo), y el en el extremo

opuesto se ubica el arroyo Buñirigo (cuadrante inferior izquierdo), vinculado a la conductividad y a la turbidez y con mayor desvío en el eje horizontal (F1). Cercanos al centro de coordenadas se ubicaron los arroyos Zapata (cuadrante inferior derecho), el cual muestra mayor desvío en el eje vertical (F2) y el arroyo de referencia El Pescado (cuadrante superior izquierdo), con escaso desvío en ambos ejes. En la tabla A.5 del Anexo IV se muestran más detalles de este análisis.

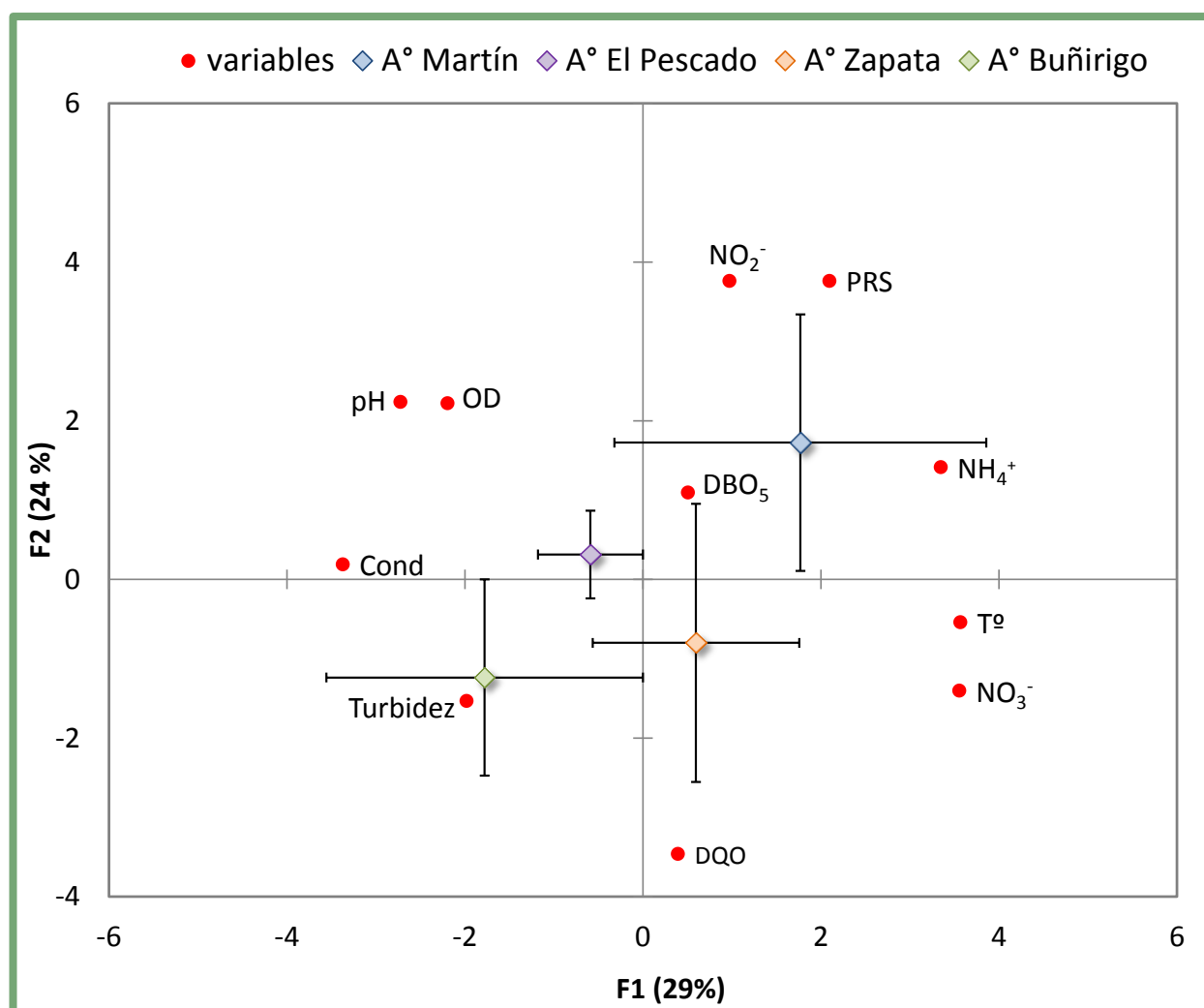


Fig. 2.5. Ordenamiento de los arroyos generado por el ACP en función a sus características físico-químicas. T°: Temperatura; Cond.: conductividad; OD: oxígeno disuelto; PRS: Fósforo Reactivo Soluble; NO₃⁻: nitratos; NO₂⁻: nitritos; NH₄⁺: amonio; DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxígeno; DQO: Demanda Química de Oxígeno.

Calidad del hábitat físico

Características del cauce

Los valores promedio de las variables del hábitat físico (ancho mojado, profundidad, velocidad de la corriente, cobertura vegetal y contenido de materia orgánica en el sedimento) medidas en de los arroyos Martín (sitio 1), El Pescado, Zapata y Buñirigo se resumen en las fichas correspondientes a cada arroyo adjuntadas al final de este capítulo.

Los tramos estudiados presentaron una baja profundidad media (entre 25 y 45 cm) y un ancho mojado variable, siendo el del arroyo El Pescado el más angosto (3 ± 1 m) en contraste con el del Buñirigo, que resultó el más ancho (9 ± 6 m en promedio, con valores de hasta 17m durante el período de construcción del puente). El contenido de materia orgánica promedio en el sedimento varió entre $7 \pm 2\%$ en el arroyo Martín y $18 \pm 7\%$ en el Zapata. La velocidad de corriente fue muy baja, con valores de entre $0,01 \pm 0,01$ m/s en los arroyos Zapata y Pescado y $0,2 \pm 0,4$ m/s en el arroyo Martín.

Calidad de los sedimentos

Las concentraciones de metales pesados (zinc, níquel, cromo, cadmio, cobre y plomo), así como las de pesticidas (POCl y POF) y herbicidas medidas en el sedimento de los arroyos se muestran en la tabla 2.4. En el arroyo Martín se registraron las mayores concentraciones de zinc, cadmio, cobre y plomo (72, 0,3, 23 y 15 $\mu\text{g/g}$ respectivamente), mientras que en el arroyo Buñirigo el metal más abundante fue níquel (10 $\mu\text{g/g}$). En el arroyo El Pescado, en cambio, se midió la mayor concentración de cromo (15 $\mu\text{g/g}$), la cual fue similar a la medida en el arroyo Buñirigo próximo a las industrias (14 $\mu\text{g/g}$). Más allá de los distintos valores registrados en cada arroyo, todas las concentraciones de estos metales estuvieron por debajo de los valores guía de toxicidad de sedimentos de ambientes de agua dulce establecidos en la guía canadiense para la protección de la biota acuática (CCME, 2014). Las concentraciones de pesticidas y herbicidas fueron bajas en todos los arroyos y estuvieron por debajo del límite de detección.

Tabla 2.4. Concentraciones (en µg/g de sedimento) de metales pesados, pesticidas y herbicidas medidas en el sedimento de los arroyos. **TEL:** Nivel umbral de efecto; **PEL:** Nivel con efecto probable; **POCL:** Pesticidas organoclorados; **POF:** Pesticidas organofosforados; nd: valores por debajo del nivel de detección.

Metales (µg /g)	TEL	PEL	A ° Martín	A ° El Pescado	A ° Zapata	A ° Buñirigo
Zinc	123	315	72	45	45	52
Níquel	-	-	10	10	6	10
Cromo	37	90	12	15	9	14
Cadmio	0,6	3,5	0,3	<0,1	<0,1	0,2
Cobre	36	197	23	15	15	18
Plomo	35	91	15	12	12	15
Herbicidas	-	-	nd	nd	nd	nd
POCl	-	-	nd	nd	nd	nd
POF	-	-	nd	nd	nd	nd

Vegetación acuática

Los porcentajes correspondientes a la superficie de los arroyos cubierta con vegetación (sumergida, flotante y palustre) así como el agua libre de la misma (LV) se muestran en la figura 2.6. En la tabla 2.5 se detalla la **diversidad, riqueza y abundancias relativas** de las especies vegetales registrada en los cuatro arroyos.

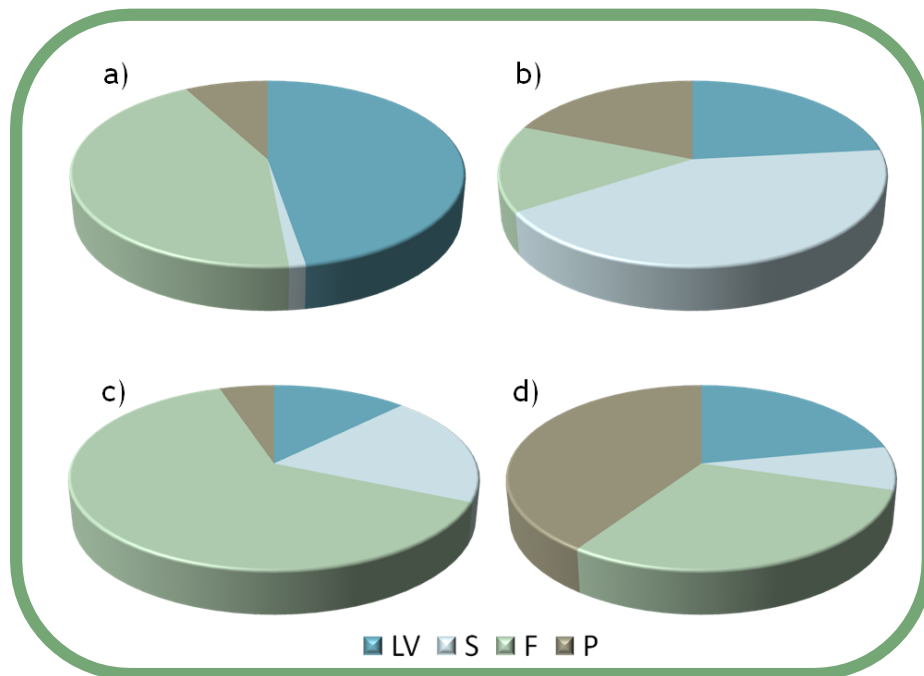


Fig. 2.6. Proporción de la superficie de los arroyos libre de vegetación (LV) y cubierta por plantas sumergidas (S), flotantes (F) y palustres (P). a) A° Martín, b) A° El Pescado, c) A° Zapata y d) A° Buñirigo.

En el tramo estudiado del arroyo Martín se registró la mayor proporción de agua libre de vegetación (47%; Fig. 2.6 a), y los menores valores de riqueza y diversidad vegetal (5 ± 2 especies y $1,3 \pm 0,1$, respectivamente), hallándose extensos manchones de vegetación flotante de *Hydrocleys nymphoides* (67% de cobertura relativa; Tabla 2.5). El tramo del arroyo El Pescado, en cambio, presentó una mayor cobertura vegetal (77%), con predominancia de plantas sumergidas (Fig. 2.6 b). Estas últimas estuvieron representadas principalmente por la macrófita *Stuckenia striata* y el alga filamentosa *Cladophora* sp. (Tabla 2.5). La riqueza promedio de especies en este arroyo fue de 7 ± 3 (con un total máximo de 14 especies diferentes registradas durante el estudio) y la diversidad media fue $2,1 \pm 0,7$. El arroyo Zapata exhibió características similares, con una mayor cobertura vegetal (88%) dominada por plantas flotantes (Fig. 2.6 c). En el A° Buñirigo la cobertura vegetal también fue elevada (77%), pero en este caso el tramo estuvo dominado por las plantas palustres (Fig. 2.6 d), siendo el junco *Schoenoplectus californicus* la especie más abundante. La riqueza promedio en este arroyo fue de 7 ± 1 especies y su diversidad fue de $1,8 \pm 0,6$. Previo a la construcción del puente, la diversidad en este tramo era de $1,1$, valor que fue aumentando hasta $2,4$ durante el período que el flujo se vio interrumpido. Junto con ese aumento de diversidad se observó un aumento en la cobertura de macrófitas

flotantes libres como *Lemna* sp., *Limnobium spongia* y *Azolla filiculoides*. Se halló una correlación positiva significativa entre la cobertura vegetal total y el contenido de materia orgánica en el sedimento ($r: 0,7$).

Tabla 2.5. Cobertura relativa, riqueza y diversidad vegetal en los diferentes arroyos estudiados.

Tipos de plantas: S: sumergidas; F: flotantes; P: palustres. A°: Arroyo.

Especies	Tipo	A° Martín	A° Pescado	A° Zapata	A° Buñirigo
<i>Ceratophyllum demersum</i> L.	S		7	5	8
<i>Cladophora</i> sp.	S		11	6	
<i>Egeria densa</i> Planch.	S	2		7	
<i>Myriophyllum aquaticum</i> (Vell) Verdc.	S		3		2
<i>Potamogeton</i> sp.	S		22		
<i>Stuckenia striata</i> (Ruiz et Pav.) Holub	S		13	5	
<i>Althernantera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb	F		10		12
<i>Azolla filiculoides</i> Lam.	F				11
<i>Hydrocleys nymphoides</i> (Willd.) Buch.	F	67		35	
<i>Hydrocotyle</i> sp.	F	12		3	1
<i>Lemna</i> sp.	F				2
<i>Limnobium spongia</i> (Bosc) Steud.	F				1
<i>Ludwigia peploides</i> (H.B.K.) Raven.	F		5		
<i>Panicum elephantipes</i> Nees ex Trin.	F		3	20	
<i>Polygonum punctatum</i> Elliott	F	4	3		12
<i>Roripa nasturtium-aquaticum</i> (L.) Hayek.	F	7			
<i>Baccopa</i> sp.	P		1		1
<i>Echinodorus grandiflorus</i> (Cham. & Schldl) Micheli	P	1	1		1
<i>Eleocharis montana</i> (Kunth) Roem. & Schult.	P			15	
<i>Gymnocoronis spilanthoides</i> (D. Don ex Hook. & Arn.)	P	1			
<i>Panicum</i> sp.	P				
<i>Sagittaria montevidiensis</i> Cham. et Schlech.	P	5	1	1	
<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A. Mey) Soják	P	2	1	2	50
<i>Schoenoplectus americanus</i> (Pers.) Volkart ex Schinz & R. Keller	P		18		
Diversidad		1,3 ±0,1	2,1 ±0,7	2,1 ±0,1	1,8 ±0,6
Riqueza		5±2	7±3	7±2	7±1

Calidad biótica

Densidad, riqueza, diversidad y abundancia relativa de macroinvertebrados

Los valores promedio de densidad registrados en el sedimento y la vegetación junto a la abundancia relativa de los principales taxa y los índices de riqueza, equitabilidad y diversidad de macroinvertebrados se exhiben en la figura 2.7. En todos los arroyos se registró una mayor **densidad** de organismos en el sedimento que en la vegetación excepto en el arroyo Buñirigo, en el que esta variable no exhibió diferencias significativas entre esos dos ambientes (vegetación y sedimento). La densidad media de macroinvertebrados fue a su vez significativamente menor en este arroyo respecto a los demás (5700 ± 3300 ind/m² versus valores mayores a 15000 ind/m², respectivamente). Para más detalles acerca de las densidades de los taxa en los arroyos por fecha de muestreo, ver tablas A.1-3 del Anexo I.

La **riqueza** taxonómica promedio de macroinvertebrados fue mayor en muestras tomadas en la vegetación que las del sedimento (21 ± 4 y 10 ± 3 taxa, respectivamente; $p < 0,001$). Los valores de esta variable en el *sedimento*, exhibieron diferencias espaciales significativas, siendo mayor en los arroyos Pescado y Zapata (12 taxa), intermedia en el Martín (9 taxa) y menor en el Buñirigo (7 taxa). Las muestras tomadas en la vegetación, en cambio, no presentaron diferencias espaciales estadísticamente significativas en los valores de riqueza. El índice de **equitabilidad** presentó un valor medio de $0,6 \pm 0,2$ y no exhibió diferencias significativas entre ambientes ni entre arroyos. Las muestras tomadas en la vegetación presentaron mayor **diversidad** que las tomadas en el sedimento ($2,5 \pm 0,5$ versus $1,7 \pm 0,2$, respectivamente) y exhibieron diferencias espaciales significativas, destacándose el menor valor promedio registrado en el arroyo Buñirigo ($1,75 \pm 0,54$ versus valores mayores a 2,5). Se halló una correlación positiva significativa entre la diversidad y la cobertura de plantas *sumergidas* ($r: 0,86$; $p < 0,05$).

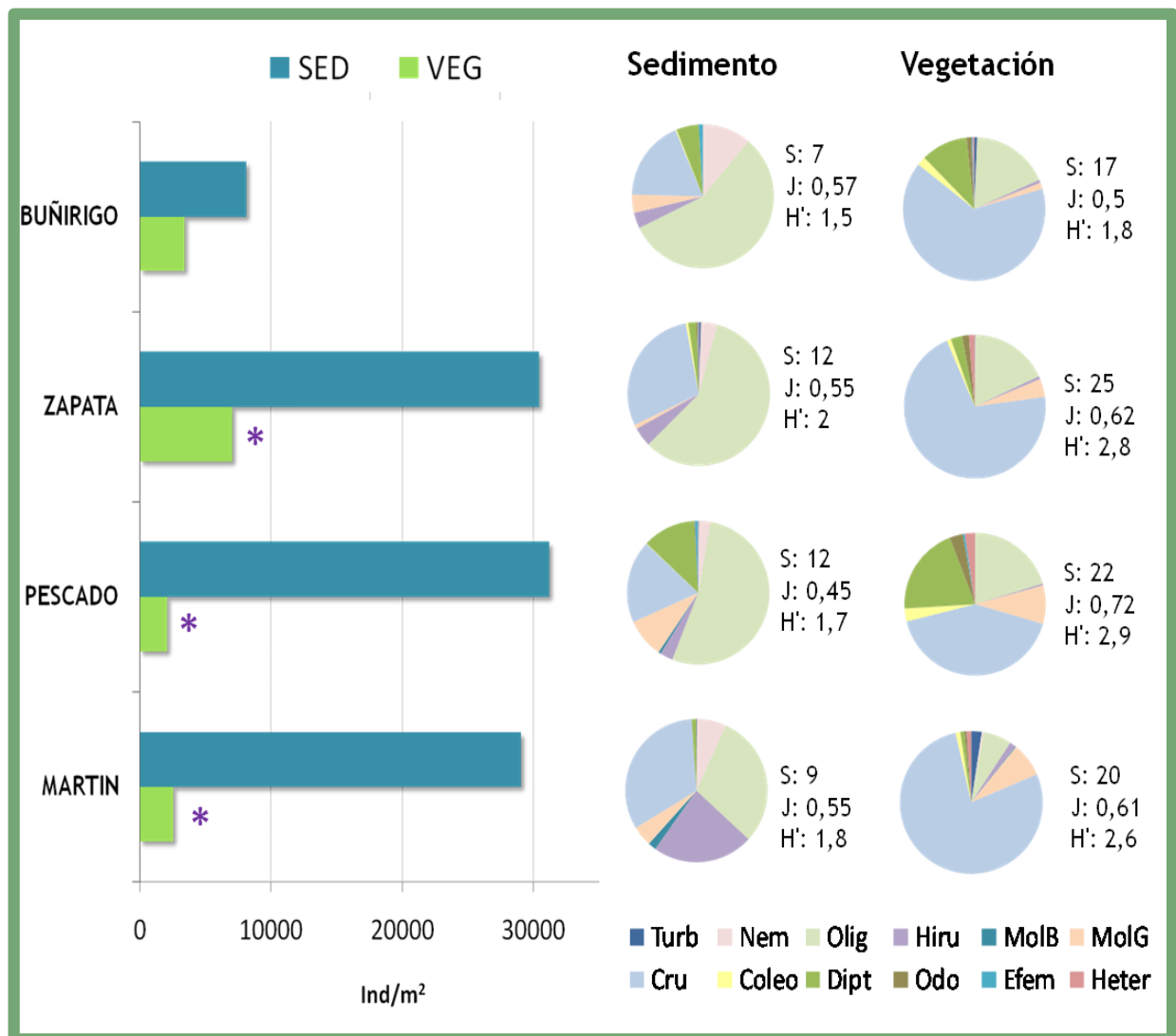


Fig. 2.7. Densidad media de invertebrados (barras) registrada en el sedimento (SED) y la vegetación (VEG) en cada arroyo; los asteriscos indican diferencias significativas entre vegetación y sedimento. Abundancia relativa (tortas) de los principales taxa e índices de riqueza (S), equitabilidad (J) y diversidad (H') registrados en los arroyos en ambos ambientes. **Turb:** Turbelarios; **Nem:** Nematodos; **Olig:** Oligoquetos; **Hiru:** Hirudíneos; **MolB:** moluscos bivalvos; **MolG:** Moluscos gasterópodos; **Cru:** Crustáceos; **Coleo:** Coleópteros; **Dipt:** Dípteros; **Odo:** odonatos; **Efem:** Efemerópteros; **Heter:** Heterópteros.

En general, los taxa más abundantes en las muestras tomadas del **sedimento** de todos los arroyos fueron los oligoquetos y los crustáceos (sobre todo anfípodos y ostrácodos). En el arroyo Martín se destacó asimismo la abundancia de hirudíneos y en El Pescado la de dípteros (ceratopogónidos, culícidos, quironómidos y estratiomidos). Los nematodos estuvieron presentes en el sedimento de todos los arroyos pero fueron más abundantes en

el del arroyo Buñirigo; en las muestras de sedimento del Zapata sólo se destaca la mayor abundancia de gasterópodos (principalmente planórbidos y ancílicos).

Las muestras de todos los arroyos tomadas en la **vegetación** estuvieron dominadas por crustáceos (principalmente anfípodos, ostrácodos y cladóceros). En los arroyos El Pescado, Zapata y Buñirigo el segundo taxón más abundante fue el de los oligoquetos, mientras que en el Martín, fueron los gasterópodos. Además de estos grupos señalados, se destaca la mayor abundancia de coleópteros, odonatos y heterópteros en el arroyo El Pescado y la elevada diversidad de crustáceos hallada en el arroyo Zapata, que incluyó a 15 de los 16 taxa determinados de ese grupo.

En total se determinaron 72 taxa que incluyeron cnidarios, turbelarios, nematodos, oligoquetos, hirudíneos, moluscos (pelecípodos y gasterópodos), crustáceos (ostrácodos, cladóceros, copépodos, branquiúridos, anfípodos y decápodos), colémbolos, ácaros e insectos (con cuatro familias de coleópteros, siete de dípteros, tres de odonatos y efemerópteros, cinco de heterópteros y un tricóptero). La presencia de cada taxa en los arroyos se detalla en la tabla 2.6. Si bien la mayoría de ellos se encontraron representados en todos los arroyos, algunos sólo se registraron en uno de ellos, por ejemplo el bivalvo *Musculium* sp. y el coleóptero *Hydrochus* sp., que sólo se encontraron en el arroyo Martín, mientras que el mejillón *Limnoperna fortunei* y el efemeróptero *Campsurus* sp. se hallaron exclusivamente en el arroyo El Pescado; asimismo, el cangrejo *Trichodactylus* sp., una especie de heteróptero de la familia Phasmidae y un tricóptero sólo se registraron en el arroyo Zapata. El camarón *Palaemonetes argentinus* fue hallado sólo en el arroyo Buñirigo, asociado al juncal.

Tabla 2.6. Presencia (x) de los taxa registrados en los arroyos Martín (M°), El Pescado (P°), Zapata (Z°) y Buñirigo (B°).

Taxa	M°	P°	Z°	B°	Taxa (cont.)	M°	P°	Z°	B°
Cnidaria					Insecta				
<i>Hydra</i> sp.	x	x	x	x	Coleoptera				
Turbelaria					Dytiscidae				
DugesIIDae	x	x	x	x	<i>Desmopachria</i> sp.	x	x	x	
Themnocephala	x		x	x	<i>Laccophilus</i> sp.		x	x	x
Turb. indet.	x	x	x	x	<i>Liodessus</i> sp.	x	x	x	x
Nematoda	x	x	x	x	<i>Megadytes</i> sp.		x		
Oligochaeta	x	x	x	x	Hydrochidae				
Hirudinea	x	x	x	x	<i>Hydrochus</i> sp.	x			
Mollusca					Larva indet.		x	x	
Pelecypoda					Hydrophilidae				
<i>Musculium</i> sp.	x				<i>Berosus</i> sp.		x	x	x
<i>Piscidium</i> sp.	x	x	x		<i>Derallus</i> sp.		x	x	x
<i>Limnoperna fortunei</i> (Dunker 1857)			x		<i>Enochrus</i> sp.	x	x	x	x
Gastropoda					<i>Paracymus</i> sp.		x	x	x
<i>Uncancylus</i> sp.	x	x	x	x	<i>Tropisternus lateralis</i> (Fabricius, 1775)		x	x	x
<i>Hebetancylus</i> sp.	x		x	x	<i>Tropisternus</i> sp.	x	x	x	
<i>Biomphalaria</i> sp.	x	x	x	x	Noteridae				
<i>Drepanotrema</i> sp.	x	x	x	x	<i>Suphis</i> sp.		x	x	
<i>Physa</i> sp.	x		x	x	<i>Suphisellus</i> sp.	x	x	x	x
<i>Pomacea canaliculata</i> Lamarck 1822	x	x	x		Diptera				
<i>Heleobia</i> sp.	x	x		x	Ceratopogonidae		x	x	x
Arthropoda					Chironomidae	x	x	x	x
Crustacea					Culicidae	x		x	x
Ostracoda					Ephydriidae	x	x	x	x
<i>Heterocypris similis</i> (Wierzejski, 1893)	x	x	x	x	Sciomyzidae		x		
<i>Chlamydotheca</i> sp.	x	x	x	x	Stratiomyidae	x		x	
<i>Gomphocythere</i> sp.	x		x	x	Tabanidae	x	x		
Copepoda					Odonata				
Cyclopoidea	x	x	x	x	Coenagrionidae	x	x	x	x
Calanoida			x	x	Aeshnidae				
Cladocera					<i>Aeshna bonariensis</i> Rambur, 1842	x	x	x	x
<i>Simocephalus</i> sp.	x	x	x	x	Libellulidae				
<i>Diaphanosoma</i> sp.	x	x	x	x	<i>Peritemis</i> sp.	x		x	x
<i>Ceriodaphnia</i> sp.			x	x	Ephemeroptera				
<i>Daphnia</i> sp.	x	x	x	x	Caenidae				
<i>Macrotrix</i> sp.			x	x	<i>Caenis</i> sp.		x		x
Chydorido indet.			x	x	Capsuridae				
<i>Scapholeberis</i> sp.			x	x	<i>Campsurus</i> sp.		x		
Branchiura			x	x	Baetidae				
Amphipoda					<i>Callibetis</i> sp.	x	x	x	x
<i>Hyaella curvispina</i> Shoemaker, 1942	x	x	x	x	Trichoptera			x	
Decapoda					Heteroptera				
<i>Palaemonetes argentinus</i> Nobili, 1901				x	Belostomatidae				
<i>Trichodactylus</i> sp.			x		<i>Belostoma</i> sp.	x	x	x	x
Collembola					Corixidae	x	x	x	x
Poduridae	x	x	x	x	Notonectidae		x		x
Sminthuridae			x	x	Phasmidae			x	
Isotomidae	x	x	x	x	Veliidae				
Acari					<i>Stridulivelia</i> sp.	x	x	x	x
Hydrachnidia	x	x	x	x					

Proporción de taxa sensibles y tolerantes

La abundancia relativa promedio de taxa sensibles, tolerantes y muy tolerantes de cada arroyo se muestra en la tabla 2.7. De los 72 taxa totales identificados para todos los arroyos, los sensibles representaron en promedio sólo un 3% de la riqueza, siendo más abundantes en los arroyos Zapata y El Pescado. En los cuatro arroyos, los taxa tolerantes fueron los más abundantes, seguidos por los muy tolerantes (56% y 41% en promedio, respectivamente). No se hallaron diferencias entre arroyos respecto a la abundancia de las distintas categorías de sensibilidad. Los taxa más sensibles (V.T. 1 a 3) fueron: Trichoptera (solamente un ejemplar hallado en el arroyo Zapata), *Perithemis* sp. (hallado en los arroyos Martín, Zapata y Buñirigo) y *Aeshna bonariensis* (presente en los cuatro arroyos).

Tabla 2.7. Abundancia relativa (%) de taxa sensibles, tolerantes y muy tolerantes presentes en cada arroyo. También se indica el número total de taxa (100%).

Arroyo	Sensibles	Tolerantes	Muy tolerantes	Nº tot taxa
Martín	1%	57%	42%	25
El Pescado	5%	54%	41%	29
Zapata	5%	55%	40%	30
Buñirigo	3%	56%	41%	22

Índices bióticos para macroinvertebrados pampeanos

De acuerdo a los valores del índice IMRP, los arroyos Martín, El Pescado y Zapata mostraron contaminación nula del agua, mientras que el Buñirigo presentó contaminación leve. Asimismo, según el IBPamp, los arroyos Martín, El Pescado y Zapata están “ligeramente poluídos” y el arroyo Buñirigo “moderadamente poluído” (Tabla 2.8)

Tabla 2.8. Valores de los índices bióticos IMRP e IBPamp calculados para cada arroyo. Los diferentes colores de las celdas se corresponden con lo indicado según el valor alcanzado por los índices.

Arroyos	IMRP		IBPamp	
	Valor	Contaminación	Valor	Polución
Martín	13 (± 2)	Nula	8 (± 1)	Leve
El Pescado	13 (± 3)	Nula	8 (± 1)	Leve
Zapata	16(± 2)	Nula	8 (± 1)	Leve
Buñirigo	12 (± 2)	Escasa	7 (± 1)	Moderada

Análisis de similitud biológica entre los arroyos.

El agrupamiento de los arroyos resultante del análisis de clusters realizado en función de sus rasgos biológicos (densidad promedio de organismos, diversidad, riqueza, equitabilidad, IMRP e IBPamp) puede apreciarse en la figura 2.8. Se observa una mayor similitud entre los arroyos Zapata y El Pescado, y de éstos con el A° Martín, hallándose máximas diferencias entre estos tres arroyos y el A° Buñirigo. Asimismo, en coincidencia con los resultados del PCA, los arroyos Martín y Buñirigo quedan ordenados hacia ambos extremos de la gráfica.

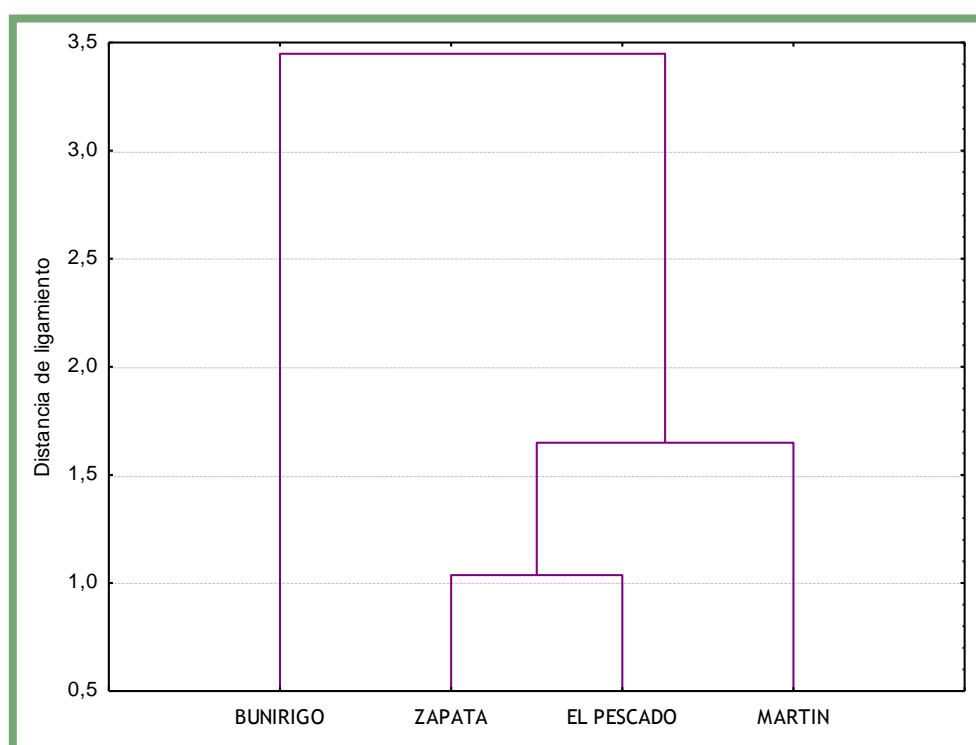


Fig. 2.8. Análisis de Clusters realizado en base a los valores medios calculados de los índices bióticos en los sitios estudiados de los cuatro arroyos.

DISCUSIÓN

En este capítulo se analizó la calidad ecológica de cuatro arroyos pampeanos y su relación con los principales usos de suelo en sus cuencas. La calidad ecológica fue definida en función a las características físico-químicas del agua, la integridad del hábitat físico y la calidad biótica, la cual fue evaluada en base a la información brindada por los ensambles de macroinvertebrados.

Según Feijoó *et al.* (2005), la calidad del agua de los arroyos pampeanos está determinada por el *tipo* y el *uso* del suelo vinculado a sus cuencas. Dado que todos los arroyos estudiados están relacionados a un mismo tipo de suelo (Argiudoles con materiales de origen loésico en la porción continental y Vertisoles ricos en arcillas marinas del Holoceno hacia la planicie costera; Camilión *et al.*, 2003; Hurtado *et al.*, 2006), es posible que las diferencias en la calidad del agua detectadas durante esta investigación estén efectivamente vinculadas al efecto de los distintos usos del suelo.

Las características del agua y del hábitat del arroyo periurbano **Martín**, concuerdan con las establecidas en investigaciones previas llevadas a cabo en este tramo del arroyo por Sierra (2008), Cortelezzi (2010) y Cortelezzi *et al.* (2013). Las mayores concentraciones de nutrientes medidas en este ambiente respecto a los demás, coincide con lo reportado para otros cuerpos de agua lóticos vinculados al uso urbano del suelo (Bruns, 2005; Miserendino *et al.*, 2008). Este rasgo representa uno de los signos del “síndrome del arroyo urbano” descrito en el capítulo 1 (ver tabla 1.2). Este enriquecimiento con nutrientes resulta favorable para el crecimiento de la macrófita flotante *H. nymphoides* (Hastwell *et al.*, 2008), que de hecho fue la especie dominante de la cobertura vegetal de este arroyo. Cortelezzi *et al.* (2013) establecieron que una dominancia de esta plantase asocia con niveles bajos a moderados de perturbación, lo que coincide con los resultados obtenidos a partir de los índices bióticos aplicados. Si bien las concentraciones de metales pesados estuvieron por debajo de los niveles tóxicos, cabe destacar que duplicaron los valores reportados en la investigación de Cortelezzi (2010), lo cual podría indicar que la calidad del sedimento de este ambiente está disminuyendo.

Las características físico-químicas del agua registradas en el tramo seleccionado del arroyo **El Pescado** son comparables a las descritas en investigaciones previas en ese ambiente (Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001; Graça *et al.*, 2002; Sierra, 2008; Paracampo, 2012; Cortelezzi *et al.*, 2013). En este arroyo se registraron los menores valores de DBO₅ y nutrientes de nitrógeno, rasgos que sumados a la elevada diversidad de vegetación e invertebrados, sustentan su apropiada selección como sitio de referencia. Otro indicador de la buena calidad del agua de este arroyo es la presencia del efemeróptero *Campsurus* sp., el cual es un organismo de elevada sensibilidad (Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001). En muchos ríos y arroyos del mundo, el índice biótico EPT, basado en la riqueza de efemerópteros, plecópeteros y tricópteros, constituye una herramienta sencilla para la evaluación de la calidad del agua (Barbour *et al.*, 1999; Mandaville, 2002). La aplicación de este índice en arroyos pampeanos, no obstante, se ve limitada por la ausencia de representantes del orden Plecóptera. Alternativamente, para ese mismo fin se ha desarrollado en Europa el índice OCH, considerándose en este caso la riqueza de odonatos, coleópteros y heterópteros (Bonada *et al.*, 2006). Estos tres órdenes se encuentran bien representados en los sistemas pampeanos, y de hecho presentaron la mayor riqueza en el este sistema de referencia, lo cual sugiere que la aplicación de este índice en esta región podría convertirse en una nueva herramienta complementaria en la evaluación de la calidad del agua.

Las variables físico químicas en el arroyo **Zapata** fueron, en general, comparables a las del arroyo de referencia. Esto difiere de los resultados reportados por Mugni (2008) y Paracampo (2012), quienes registraron mayores concentraciones de nutrientes en este arroyo que en El Pescado (aproximadamente el doble de nitratos y hasta un orden de magnitud de diferencia en las concentraciones de amonio y PRS que los registrados en esta tesis). Estas diferencias podrían explicarse teniendo en cuenta que el tramo elegido para el presente estudio presenta una elevada abundancia de macrófitas, la cual resulta una condición favorable para la depuración de aguas contaminadas con nutrientes y otros compuestos (Greenway, 2007; Mugni, 2008; Cortelezzi *et al.*, 2013). Al mismo tiempo, las características de la vegetación del arroyo Zapata son similares a la las registradas en el arroyo El Pescado (elevada diversidad y cobertura), lo que explica las similitudes bióticas halladas entre ambos cuerpos de agua, favorecidas por las mayores posibilidades de refugio y alimento para los invertebrados (Ferreiro *et al.*, 2011; Ferreiro, 2012; Cortelezzi *et al.*, 2013).

El arroyo **Buñirigo** mostró signos del impacto antropogénico vinculado al uso del suelo. Esto se reflejó tanto en las características del agua (elevados valores de turbidez y conductividad) como en las de la biota (menor abundancia y diversidad de invertebrados y baja abundancia relativa de taxa sensibles). Asimismo, la cobertura vegetal de este arroyo estuvo dominada por la especie *S. californicus*, lo cual se asocia a un nivel intermedio de perturbación del hábitat según Cortelezzi *et al.* (2013). Esto podría estar vinculado al impacto de las descargas industriales en el sitio de muestreo, ya que investigaciones previas evidenciaron una mejor calidad ecológica aguas arriba de este punto (Rodrigues Capítulo *et al.*, 2001; García, 2008; Paracampo, 2012).

Las diferencias entre los arroyos estudiados se vieron escasamente reflejada en los índices bióticos aplicados (IMRP e IBPamp) y en la abundancia de especies sensibles. Esto probablemente se deba a que la asignación del grado de sensibilidad de muchos de los taxa requirió de aproximaciones realizadas a partir de la información disponible para especies o grupos similares en otras partes del mundo, lo que podría llevar a subestimar la sensibilidad de algunos taxa hallados en estos arroyos. Por esto, se destaca la importancia de continuar explorando la sensibilidad de las especies locales con el fin de ajustar los índices y valores de tolerancia a las condiciones presentes en los arroyos pampeanos.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

- ⊙ Las variables analizadas permitieron definir la calidad del agua de los arroyos desde una perspectiva amplia, ya que no sólo se contemplaron las características físico-químicas del agua, sino también la integridad del hábitat y la calidad biótica.
- ⊙ El arroyo Martín mostró evidencias del impacto del uso urbano del suelo, mientras que el arroyo Buñirigo manifestó las consecuencias del impacto del uso industrial al que está sometido. Por otra parte, el tramo estudiado del arroyo Zapata exhibió rasgos muy similares al arroyo de referencia, lo que no se condice con los usos del suelo que se realizan en su cuenca y lo reportado por otros investigadores.
- ⊙ Las similitudes entre los tramos estudiados de los arroyos El Pescado y Zapata probablemente se deban a la elevada cobertura y diversidad de vegetación hallada en

ambos arroyos, por lo que se destaca la importancia de las macrófitas en la conservación de una buena calidad ecológica.

⊙ Los índices bióticos aplicados (IMRP e IBPamp) y la abundancia de taxa sensibles no manifestaron claramente las diferencias en la calidad de agua de los arroyos observadas mediante los otros rasgos analizados. Por esto se plantea la necesidad de ajustar los valores de tolerancia de los taxa hallados en la región con el fin de perfeccionar estas herramientas en la evaluación de la calidad del agua de cuerpos lóticos pampeanos.

⊙ Asimismo, se propone la evaluación de la validez del índice OCH como complemento en la evaluación de la calidad de agua de estos arroyos.

Los resultados del presente capítulo permiten ordenar a los sitios estudiados en orden decreciente según la calidad del agua de la siguiente manera: A° El Pescado > A° Zapata > A° Martín > A° Buñirigo

Las fichas que se exhiben a continuación resumen los aspectos más relevantes referidos a la calidad del agua de los arroyos registrada en el período de estudio.

A° El Pescado



34°57'37"S
57°46'40"O

Usos del suelo

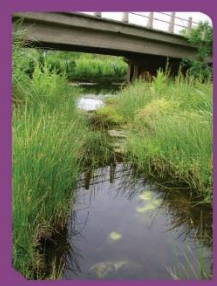
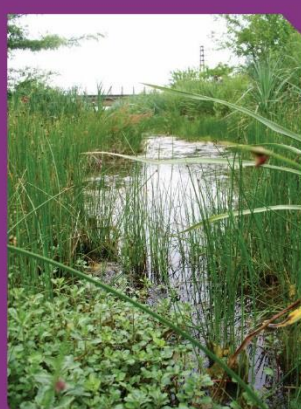
Agrícola *

Ganadero *

Características del hábitat

Ancho mojado (m) 3
Profundidad (m) 0,36
Veloc. de cte. (m/s) 0,01
% MO sedimento 12

Márgenes naturales
Basura/chatarra *
Olores nd



Aspecto general
del tramo

Calidad del agua



Nutrientes

DBO₅

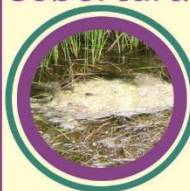
IMRP: Contaminación
nula ☐

IBPamp: No poluído ☒

Calidad: 1

Vegetación

Cobertura vegetal 77%



Sumergidas..... 56%

Stukenia striata
Cladophora sp.

Flotantes 22%

Althernantera philoxeroides



Palustres 22%

Schoenoplectus americanus

Invertebrados

Vegetación



Sedimento



A° Zapata



34°59'19" S
57°42'59" O

Usos del suelo

Agrícola *
Ganadero **
Industrial ***

Características del hábitat

Ancho mojado (m) 3
Profundidad (m) 0,36
Veloc. de cte. (m /s) 0,01
% MO sedimento 18

Márgenes naturales
Basura/chatarra..... *
Olores nd



Aspecto general del tramo

Calidad del agua



Cobertura y diversidad
de macrófitas

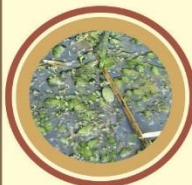
IMRP: Contaminación
nula

IBPamp: No poluído

Calidad: **2**

Vegetación

Cobertura vegetal 88%



Sumergidas..... 24%
Ceratophyllum demersum

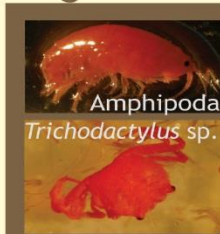
Flotantes 58%
Panicum elephantipes



Palustres 19%
Eleocharis montana

Invertebrados

Vegetación



Sedimento



A°Martín (sitio 1)



34°52'28" S
58°04'13" O

Usos del suelo

Urbano..... ***
Industrial..... *

Características del hábitat

Ancho mojado (m) 7
Profundidad (m) 0,27
Veloc. de cte. (m/s) 0,2
% MO sedimento 7

Márgenes dragados
Basura **
Desechos domiciliarios..... *



Aspecto general del tramo

Calidad del agua



Basura
Nutrientes

IMRP: Contaminación nula ○

IBPamp: Ligeramente poluído ●

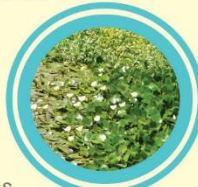
Calidad: 3

Vegetación

Cobertura vegetal53%



Sumergidas..... 2%
Egeria densa



Flotantes.....89%
Hydrochleis nymphoides



Palustres..... 9%
Sagittaria montevidensis

Invertebrados

Vegetación



Sedimento



A° Buñirigo



35°03'47" S
57°33'15" O

Usos del suelo

Agrícola.....	*
Ganadero.....	**
Industrial.....	***

Características del hábitat

Ancho mojado (m)	9
Profundidad (m)	0,30
Veloc. de cte. (m/s)	0,05
% MO sedimento	12
Márgenes	naturales
Basura	*
Olores	***



Aspecto general del tramo

Calidad del agua



Conductividad
Turbidez

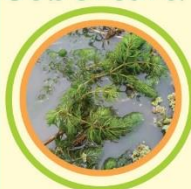
IMRP: Contaminación leve

IBPamp: Moderadamente poluído

Calidad: 4

Vegetación

Cobertura vegetal77%



Sumergidas..... 10%
Ceratophyllum demersum

Flotantes.....38%

Alternanthera philoxeroides



Palustres..... 52%
Schoenoplectus californicus

Invertebrados

Vegetación



Sedimento



A.C. Ferreira
Tesis Doctoral

2015



ANÁLISIS DE RASGOS POBLACIONALES EN RELACIÓN CON LA CALIDAD DE AGUA

Capítulo 3: ANÁLISIS DE RASGOS POBLACIONALES DE *HYALELLA CURVISPINA* Y *POMACEA CANALICULATA* Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DEL AGUA DE LOS ARROYOS

INTRODUCCIÓN

La medición de **rasgos biológicos** poblacionales constituye una herramienta de gran importancia en la evaluación de la calidad ecológica de los ambientes, ya que no sólo permite obtener una visión instantánea de la salud del cuerpo de agua, sino que también nos permite inferir los efectos de eventos pasados y hacer predicciones sobre los acontecimientos futuros (Barata *et al.*, 2000; Hyne y Malher, 2003). Varias poblaciones de crustáceos han sido utilizadas en la evaluación de la calidad del agua de ríos, arroyos, estuarios y costas marinas, siendo la densidad uno de los rasgos poblacionales más frecuentemente utilizados como indicador (Wirth *et al.*, 2002; Chintiroglou *et al.*, 2004; Pennafirme y Soares-Gómez, 2009; Chiodi Boudet *et al.*, 2013). Por ejemplo, de la Ossa Carretero *et al.*, (2010) observaron que la abundancia del tanaidáceo *Apseudes latreillei* Milne-Edwards, 1828 disminuía en relación a la contaminación provocada por descargas cloacales en el Mar Mediterráneo. Asimismo, según Ambrosio *et al.* (2014), los cambios en la abundancia de *Sinelobus stanfordi* Richardson, 1901 (Tanaidacea) son capaces de reflejar el impacto de los usos del suelo a lo largo de la costa argentina del estuario del Río de La Plata. Por otra parte, Jergentz *et al.* (2004), evaluaron la supervivencia y migración de *Hyalella curvispina* (Amphipoda) y *Macrobrachium borelii* Nobili, 1896 (Decapoda) en respuesta a pulsos de contaminación con agroquímicos en arroyos pampeanos. Las respuestas a la contaminación de poblaciones naturales de moluscos, en cambio, han sido menos estudiadas.

En este capítulo se analizaron distintas variables poblacionales **estructurales** (densidad, biomasa, estructura etaria y proporción de sexos) y **dinámicas** (crecimiento, reproducción, supervivencia) de dos especies de macroinvertebrados acuáticos bien representadas (por su abundancia y biomasa) en los arroyos pampeanos: *Pomacea canaliculata* y *Hyalella curvispina*. Las diferencias interpoblacionales de estas dos

especies fueron analizadas en función de la calidad del agua de los cuatro sitios descriptos en el capítulo 2.

⊙ *Hipótesis:*

- Los rasgos poblacionales de *H. curvispina* y *P. canaliculata* se ven alterados en respuesta a la calidad ecológica de los ambientes, por lo que se espera que en ambientes perturbados se registren menores valores de densidad, biomasa, fecundidad, fertilidad, crecimiento y supervivencia de estas especies con respecto a los registrados en el sitio de referencia.
- Existen rasgos poblacionales de *H. curvispina* y *P. canaliculata* que sirven como herramientas complementarias para la evaluación de la calidad del agua de los ambientes lóticos pampeanos seleccionados.

⊙ *Objetivos*

- Estudiar las poblaciones de *H. curvispina* y *P. canaliculata* provenientes de cuatro arroyos vinculados a distintos usos del suelo y relacionar los datos de los rasgos poblacionales con la calidad ecológica de los sitios estudiados.
- Evaluar la sensibilidad de estas especies frente a las diferentes condiciones de calidad de agua a partir de sus rasgos poblacionales.
- Evaluar la potencial obtención de una nueva herramienta para el monitoreo de los arroyos pampeanos a partir de uno o más rasgos poblacionales de las especies estudiadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Criterio de selección de las especies a estudiar

Los principales criterios de selección de las especies fueron:

- que estuvieran bien representadas en los cuerpos de agua de la llanura pampeana, lo cual se corroboró con muestreos preliminares y en base a la bibliografía (Lopretto y Tell, 1995; Casset *et al.*, 2001; Rumi *et al.*, 2008);
- que tuvieran un tipo de oviposición que facilitara los estudios de fecundidad. Como fuera comentado en el capítulo 1, *P. canaliculata* deposita puestas grandes y conspicuas sobre la vegetación y otras superficies (Rawlings *et al.*, 2007), mientras que las hembras de *H. curvispina* llevan los huevos en un marsupio hasta su eclosión (Casset *et al.*, 2001).

Estudio de rasgos poblacionales

En la tabla 3.1 se muestran los rasgos poblacionales analizados para las 2 especies seleccionadas.

Tabla 3.1. Rasgos poblacionales estudiados en *H. curvispina* y *P. canaliculata*.

Rasgos	<i>Hyalella curvispina</i>	<i>Pomacea canaliculata</i>
Densidad	x	x
Biomasa	x	x
Estructura etaria	x	x
Proporción de sexos	x	x
Fecundidad	x	x
Fertilidad	-	x
Crecimiento	-	x
Supervivencia	-	x

Los muestreos de ambas especies se realizaron simultáneamente con los de la calidad del agua en noviembre de 2009, marzo de 2010 y noviembre de 2010. Los individuos de *H. curvispina* se obtuvieron a partir de las muestras tomadas en los arroyos por triplicado entre la vegetación con un tamiz de 500 μm de apertura de malla en los arroyos (ver metodología en el Capítulo 2). Teniendo en cuenta que el pico de abundancia y reproductivo de este anfípodo ocurre entre octubre y diciembre (Casset *et al.*, 2001; Galassi *et al.*, 2006), los rasgos poblacionales de este crustáceo se analizaron a partir de las muestras tomadas en noviembre de 2009 y 2010.

Para el estudio de los rasgos poblacionales *estructurales* de *P. canaliculata* (densidad, biomasa, estructura etaria, proporción de sexos) se tomaron cuatro réplicas en cada arroyos. Para ello se definió una unidad de esfuerzo consistente en 10 minutos de búsqueda entre la vegetación y en los sedimentos (Martín *et al.*, 2001). En las orillas de los arroyos, en donde la profundidad lo permitía, se realizó una colecta manual de los caracoles, mientras que lejos de las orillas y entre la vegetación flotante se recurrió además a la ayuda de un tamiz (lo que al mismo tiempo favoreció a la obtención de representantes de las tallas más pequeñas). Por otra parte, durante el verano de 2009-2010 se realizaron varias colectas de puestas de *P. canaliculata* depositadas sobre la vegetación para el estudio de las variables poblacionales dinámicas (crecimiento y supervivencia de neonatos, fertilidad y fecundidad).

⊙ Densidad

Para el cálculo de la densidad de *H. curvispina* se consideró el número de individuos registrados en una superficie de 3156 cm^2 , la cual se obtuvo multiplicando el número de veces que se pasó el tamiz en cada muestra (10 veces) por la superficie del tamiz (315,6 cm^2). Dado que los muestreos de *P. canaliculata* no se realizaron por unidad de superficie sino de esfuerzo (UE), la densidad se expresó como un promedio de abundancia de caracoles en cada muestra (ind/UE).

⊙ Biomasa

Para calcular la biomasa de *H. curvispina*, los organismos fueron medidos considerándose su largo máximo, desde la base de la antena hasta el extremo de cada individuo con su curvatura natural de acuerdo a Miserendino (2001) (Fig. 3.1) con una regla acoplada al ocular de una lupa binocular y separados según las tallas en 8 categorías o clases de tamaños: **neonatos** (0,6-2 mm), **juveniles I** (Juv I; 2,05-3 mm), **juveniles II** (Juv II;), **machos I** (4,05-7 mm), **machos II** (> 7mm), **hembras I** (4,05-7 mm), **hembras II** (> 7mm) y **hembras ovígeras** (Hov; todas aquellas que presentaran huevos en el marsupio); los machos adultos fueron reconocidos por el desarrollo del segundo gnatópodo. Tales categorías se determinaron en base a lo publicado por García *et al.* (2010), aunque debieron ajustarse algunos criterios *ad hoc*, dado que en la mencionada publicación no se clasificaron por su talla los individuos comprendidos entre los 2,3 y 3,2 mm; además estos autores clasificaron como “juveniles” a organismos de hasta 5 mm, mientras que en el presente estudio se registraron numerosos ejemplares con los rasgos sexuales secundarios a partir de los 4 mm (y excepcionalmente menores también). Las subdivisiones en “I” y “II” dentro de las categorías fueron determinadas arbitrariamente con el fin de disminuir los desvíos en el PS causado por las diferencias de tallas.

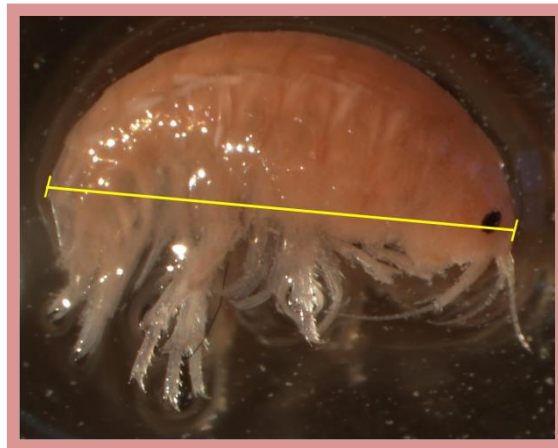


Fig. 3.1. Largo máximo de ejemplares de *Hyalella curvispina*.

El pool de individuos de cada categoría fue secado en estufa a 60°C hasta obtener el peso seco (PS) constante (mínimo de 48 horas). Para obtener el peso promedio por individuo de cada clase etaria, se dividió el PS del pool por el número de individuos que lo conformaban. El aporte de cada clase etaria a la biomasa total fue calculado

multiplicando el peso promedio de los individuos de cada clase por su densidad, de modo que la biomasa total se obtuvo sumando las biomásas de cada categoría.

La biomasa de las poblaciones de *P. canaliculata* de cada arroyo se estimó a partir del peso seco de los tejidos blandos de los animales (“PStej”; mg/ind). Los individuos fueron medidos (altura de la abertura, “HA” y largo total “LT”) y posteriormente disecados para separar las partes blandas (tejidos y glándula de albumen de las hembras) de las duras (conchilla y opérculo). Todas esas partes fueron luego secadas en estufa a 60 °C hasta obtener el peso seco estable (tiempo mínimo de secado: 72 hs). Cada uno de los pesos se registró por separado para conocer su contribución al PS total (tabla A.4, Anexo II). En algunos casos de muestras muy numerosas o con elevada abundancia de caracoles pequeños, el peso seco de los tejidos (PS Tej) de aquellos individuos menores a los 20 mm se estimó a partir del peso seco total de los organismos (Fig. A.3, Anexo II). Dado que el método de muestreo no permitió obtener una densidad expresada en términos de superficie, la biomasa fue expresada en términos relativos como mg/UE.

☉ Proporción de sexos, Estructura Etaria y Distribución de Tallas.

La determinación del sexo y de las distintas clases etarias de *H. curvispina* se realizaron teniendo en cuenta las categorías descriptas anteriormente en la sección “biomasa” de este capítulo. La determinación de las clases de edades de los organismos de *P. canaliculata*, fue más difícil, ya que ésta presenta un tipo de crecimiento continuo y el tamaño al cual los individuos alcanzan la madurez sexual es variable en cada población (Tamburi y Martín, 2008). Si bien evidencian dimorfismo sexual en el tamaño y la forma de la conchilla y el opérculo (Estebenet, 1998), se requiere de su disección para corroborar el sexo. En la presente investigación, los individuos fueron medidos (LT) y clasificados como *machos*: aquellos con una vaina del pene bien desarrollada y masa testicular visible; *hembras*: aquellas que tuvieran la glándula del albumen (GA) conspicua; *juveniles*: todos los organismos menores a 20 mm e “*indeterminados*”: categoría que incluyó a los individuos con talla correspondiente a ejemplares maduros sexualmente (mayores a 17 mm, en general), pero que no fueron sexados (ya sea porque no se disecaron por ser una muestra muy numerosa o porque los tejidos blandos no se fijaron correctamente en el campo y sólo se conservaron las conchillas).

☉ Fecundidad

La fecundidad de *H. curvispina* se definió como número de huevos por hembra (Casset *et al.*, 2001) y la de *P. canaliculata*, como número de huevos por puesta. Si bien, en general, se expresa como el número de huevos por hembra (Estebenet y Martín, 2002), no se pudo estimar de ese modo porque en cada arroyo se colectaron puestas depositadas por distintas hembras.

La fecundidad de *H. curvispina* se estimó contando bajo lupa binocular el número de huevos presentes en el marsupio luego de separarlos cuidadosamente del cuerpo de la hembra (Fig. 3.2). Los datos se analizaron mediante un ANOVA de 2 vías para analizar la variación temporal y espacial (α 0,05). En caso de hallar diferencias significativas, se utilizó el *test a posteriori* Student-Newman-Keuls para separar los grupos. También se realizó un ANCOVA seguido de una comparación de pendientes con el software de procesamiento de datos estadísticos para examinar la relación entre el tamaño de las hembras de cada arroyo y su fecundidad.

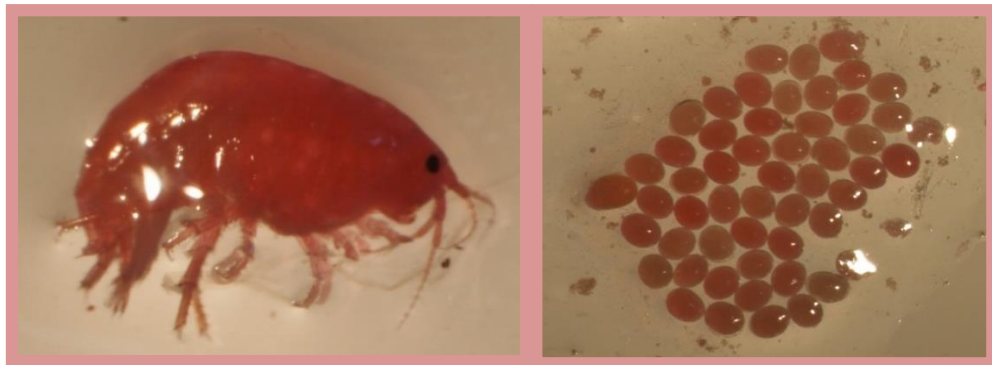


Fig. 3.2. Hembra ovígera de *Hyaella curvispina* (izq.) y huevos en desarrollo extraídos del marsupio (der.).

Para estimar la fecundidad de *P. canaliculata*, se colectaron 20 puestas en cada arroyo que fueron trasladadas al laboratorio en bandejas (Fig. 3.3.a). Una vez allí, se procedió a disolver la sustancia que aglutina los huevos con hipoclorito de sodio, de manera que las puestas quedaran desagregadas (Fig. 3.3.b). Luego cada puesta fue fotografiada con cámara digital y los huevos fueron contados y medidos utilizando un software de procesamiento de imágenes (Fig. 3.3. c y d). Las diferencias en el número de huevos por puesta, así como en el tamaño de los huevos, fueron analizadas mediante

ANOVA de una vía (factor “arroyo”), y los grupos resultantes se evaluaron mediante un test *a posteriori* Student-Newman-Keuls (SNK) para separar los grupos.

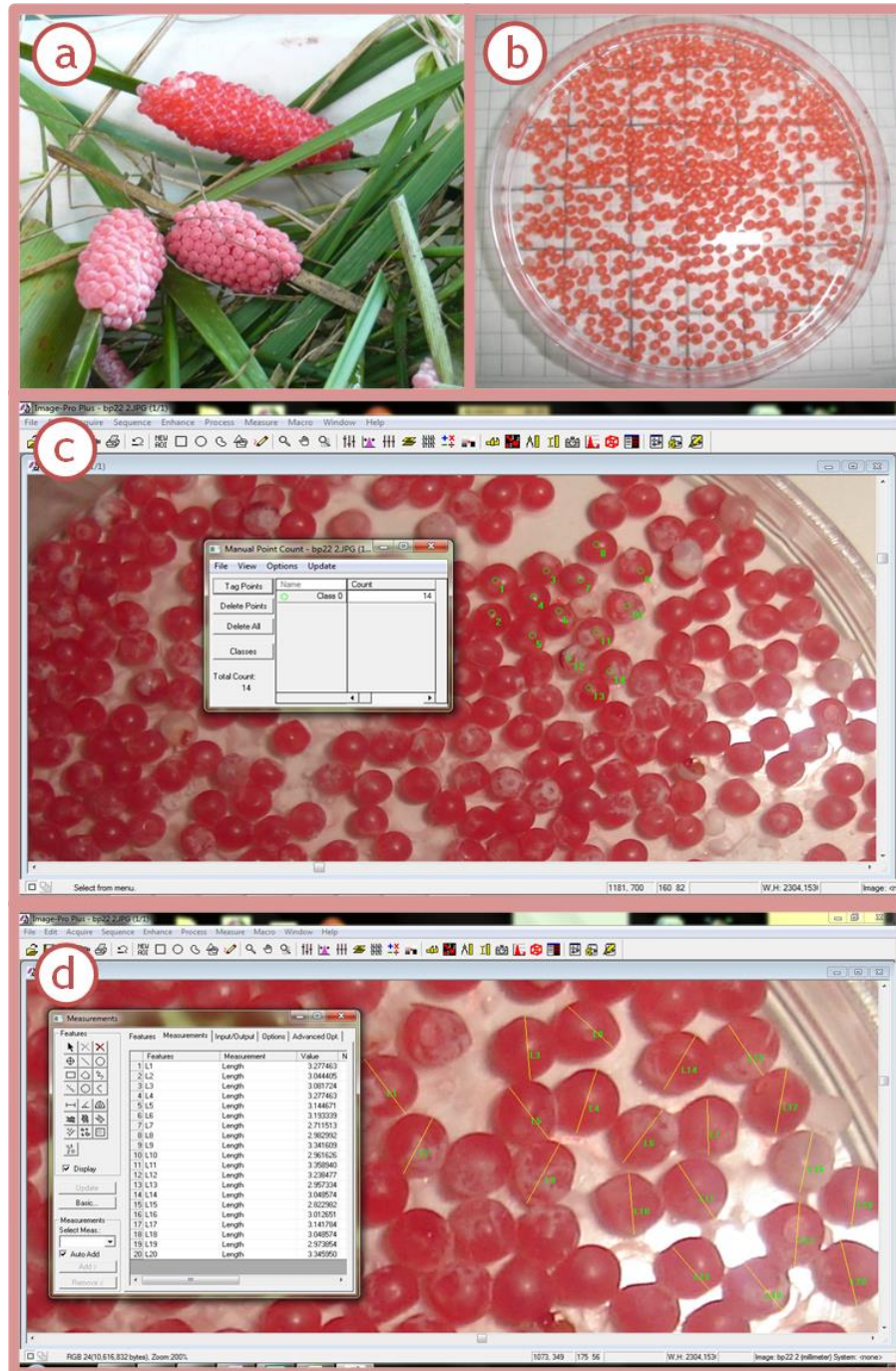


Fig. 3.3.a. Puestas de *P. canaliculata* colectadas de los arroyos; b. Puesta desagregada; c y d. Conteo y medición de los huevos mediante un software de procesamiento de imágenes .

⊙ Fertilidad

La fertilidad es el número de huevos que sobreviven en el proceso de reproducción de una hembra (Rabinovich, 1978), pero en este caso, la fertilidad de *P. canaliculata* no se estimó por hembra, sino en función del número total de cada puesta. Para el análisis de este rasgo en las poblaciones de este caracol, se colectaron puestas depositadas sobre la vegetación en los cuatro sitios del área de estudio (Fig. 3.4 a) y se trasladaron cuidadosamente al laboratorio en donde se colocaron en recipientes individuales con agua corriente (Fig. 3.4 b). A medida que las puestas maduraron, se contabilizaron los huevos eclosionados (HE) (fig. 3.4 c) y los que no lo hicieron (HNE). A estos últimos se los clasificó en: huevos rotos (HR), no desarrollados (HND; aquellos que no desarrollan embrión) y desarrollados (HD; aquellos en lo que el embrión estaba desarrollado pero no llegaron a eclosionar). La fertilidad (%) se calculó como la proporción de huevos eclosionados (HE) del total de huevos en la puesta (Pizani *et al.*, 2005).

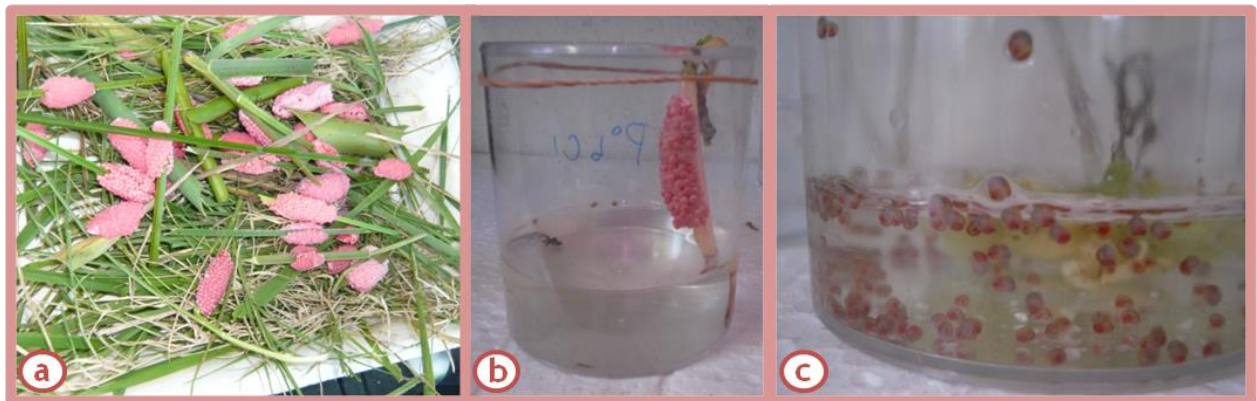


Fig. 3.4.a. Puestas de *P. canaliculata* colectadas en el campo; b. Puestas en proceso de maduración; c. embriones nacidos de huevos eclosionados.

⊙ Crecimiento individual de neonatos

Las tendencias del crecimiento individual de *P. canaliculata* se estudiaron mediante un ensayo en laboratorio (mesocosmos). Las puestas depositadas sobre la vegetación fueron colectadas en los sitios estudiados de los arroyos Martín, El Pescado, Zapata y Buñirigo y llevadas al laboratorio en donde eclosionaron (tiempo 0); de este modo, se obtuvo un pool de neonatos para cada arroyo que fueron dispuestos en recipientes con agua del arroyo (tratamientos “a”) y agua mineral comercial *Eco de los Andes* (tratamientos “b”; características: pH: 8,1, conductividad: 230 μ S/cm, calcio: 30 mg/l,

magnesio: 3 mg/l, sodio: 10 mg/l, fluoruro: 1,14 mg/l, potasio: 4 mg/l, cloruro: 4 mg/l, bicarbonato: 79 mg/l, sulfato: 44 mg/l; fuente: http://www.ecodelosandes.com.ar/o_composicion.swf). La selección de este último tipo de agua se realizó luego de evaluar la supervivencia de los neonatos en distintos tipos de agua (potable, reconstituida y otras marcas de agua mineral), obteniendo resultados positivos sólo con esa marca. Por otra parte, el agua de los arroyos se colectó periódicamente en bidones, transportada al laboratorio y filtrada con un tamiz de 100 µm de apertura de malla para retener los pequeños organismos y plantas flotantes (microcrustáceos y lemnáceas, principalmente) y se tomaron algunos parámetros físico-químicos del agua (temperatura, pH y conductividad). Se tomaron además muestras de agua de los arroyos para realizar las determinaciones de las concentraciones de nutrientes.

Al inicio de esta experiencia se dispusieron 5 neonatos en recipientes de 250 cm³, pero a medida que los caracoles fueron creciendo, tanto la capacidad de los recipientes como el número de individuos contenidos en ellos se fueron modificando con el fin de evitar el efecto de apiñamiento (tabla 3.2).

Tabla 3.2. Manipulación de las densidades de *P. canaliculata* a lo largo de la experiencia de crecimiento.

SEMANA	Capacidad	Recipientes x tratamiento	Caracoles x recipiente	Caracoles x tratamiento
1	250 ml	20	5	100
2	250 ml	18	5	90
3	250 ml	16	5	80
4	500 ml	14	5	70
5	250 ml	12	2	60
7	3000 ml	5	10	50
9	3000 ml	8	5	40
11	3000 ml	2	5	10
13	3000 ml	2	5	10
15	3000 ml	2	5	10

Durante las primeras 5 semanas los caracoles fueron medidos semanalmente y luego cada 15 días. En cada oportunidad se registró la altura de la abertura del opérculo de 10 caracoles elegidos al azar en cada tratamiento (HA; Estebenet, 1998) (Fig. 3.5). Para facilitar la comparación con otros trabajos publicados, la medida HA fue convertida a

largo total (LT) mediante la aplicación de la fórmula $LT = 0,697 + 1,273 \cdot HA$ (Fig. A.1, Anexo II). Dada la dificultad en la medición de los caracoles más pequeños en vivo, las primeras 7 semanas de la experiencia los ejemplares fueron sacrificados, fijados en metanol al 70% y medidos posteriormente bajo lupa binocular con ocular micrométrico (Fig. 3.5 a). Una vez que los caracoles presentaron talla suficiente para ser manipulados fácilmente, se utilizó un calibre digital y los ejemplares fueron mantenidos con vida (Fig. 3.5 b). Al final de la experiencia (semana 15), los caracoles sobrevivientes fueron medidos y luego sacrificados para obtener la biomasa final, la cual se obtuvo secando en estufa a 60 °C por 72 horas tanto las partes blandas como las partes duras (Estebenet, 1998).

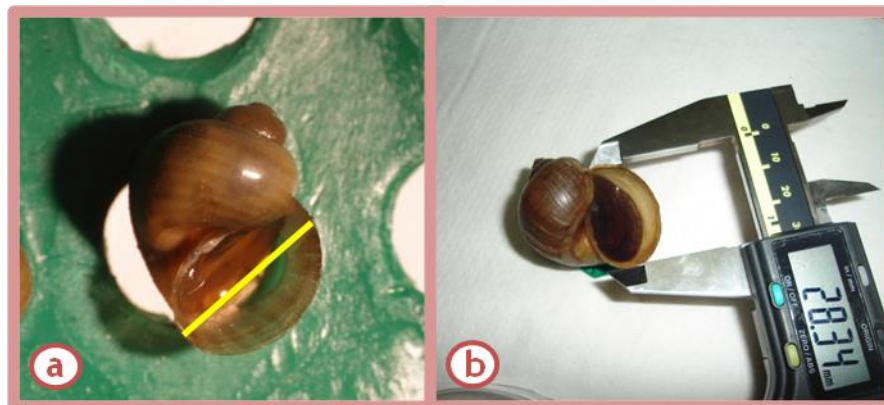


Fig. 3.5. Medición de los caracoles bajo lupa binocular (a) y con calibre digital (b).

Los datos fueron analizados a un nivel de significancia de 0,05. Las diferencias se analizaron mediante un ANOVA de 3 vías, siendo examinados los siguientes factores:

- Factor “Arroyo”, con 4 niveles (Martín, Pescado, Zapata y Buñirigo)
- Factor “tratamiento”, con 2 niveles (“a”, agua del arroyo y “b” agua mineral comercial)
- Factor “tiempo” , con 10 niveles (“t0”, inmediatamente después de eclosionar, “t1: semana 1, “t2”: semana 2; “t3” semana 3; “t4”: semana 4; “t5”: semana 5; “t6”: semana 7; “t7”: semana 9; “t8”: semana 11; “t9”: semana 13 y “t10”: tamaño final, semana 15)

La comparación de pendientes se realizó mediante un ANCOVA (previa linearización con logaritmo natural) y los agrupamientos posteriores se obtuvieron con test de Tukey.

Las diferencias en las variables físico-químicas del agua de los acuarios se analizaron mediante ANOVA factorial a dos vías con los factores “Arroyo” y “tratamiento” (con los mismos niveles descriptos previamente) y posterior aplicación del test SNK para distinguir los agrupamientos generados.

⊙ Supervivencia

La longevidad promedio de *P. canaliculata* en condiciones de laboratorio a temperatura constante (25°C) es de 13,5 meses. En esta experiencia se estudió la supervivencia de neonatos mediante una experiencia en el laboratorio que consistió en someter a los caracoles recientemente eclosionados de *P. canaliculata* a dos tipos de tratamientos, tal como se realizó en la experiencia de crecimiento: agua traída de los arroyos Martín, Pescado, Zapata y Buñirigo (tratamientos “a”) y agua mineral comercial (tratamientos “b”). Los neonatos se obtuvieron a partir de puestas colectadas en el campo y una vez eclosionados en el laboratorio, los neonatos nacidos dentro de una misma semana y con tamaño similar fueron separados según el arroyo de procedencia y colocados en acuarios de 9 litros (100 neonatos por acuario; Fig. 3.6). Se realizaron 3 réplicas de cada tratamiento. Los caracoles se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio con fotoperiodo 12:12, temperatura de la sala 24°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) y aireación permanente y fueron alimentados *ad libitum* con lechuga (*Lactuca sativa* var. *capitata*). Durante las tres primeras semanas, el cambio de agua se realizó semanalmente y durante el resto de la experiencia (semanas 5 a 11) se realizó cada 15 días con cambios parciales semanales. En cada cambio total se cuantificaron los individuos vivos y los muertos. Los individuos se consideraron muertos si presentaban alguna de estas situaciones: a) la conchilla estaba vacía, b) los tejidos blandos eran de color blanco, emergiendo de la conchilla y sin responder al estímulo de una leve punción con una aguja y c) si no mostraban movimiento alguno en un lapso de 5 minutos de observación (Lima Melo *et al.*, 2000). Los individuos muertos fueron retirados para evitar el deterioro del agua. A su vez se midieron las siguientes variables físico-químicas del agua: pH, temperatura y conductividad.

Finalizada la experiencia en la semana 11, los caracoles sobrevivientes permanecieron 30 días más en los acuarios para luego ser contados nuevamente, medidos (HA) y pesados (peso fresco) para evaluar las diferencias en los tamaños y biomasa alcanzados.

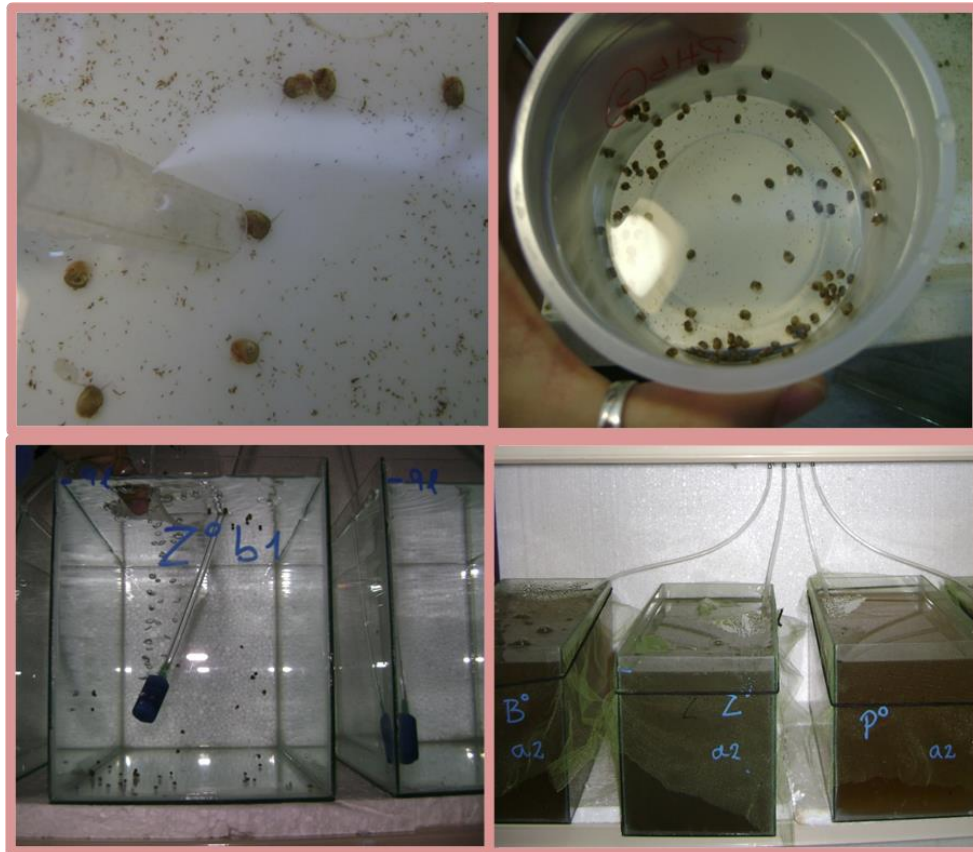


Fig. 3.6. Comienzo de la experiencia de supervivencia. Selección de los neonatos de *P. canaliculata* (imágenes superiores) y ulterior colocación en los acuarios de 9 L (imágenes inferiores) con agua de referencia (izquierda) y con agua del arroyo (derecha).

Las hipótesis de esta experiencia fueron:

- Si la supervivencia de *P. canaliculata* depende de la calidad del agua, se espera que existan diferencias significativas entre los tratamientos llevados a cabo con agua de los arroyos (tratamientos “Xa”, donde X es el arroyo), pero no entre aquellos realizados con agua mineral comercial (tratamientos “Xb”).
- Si la supervivencia de *P. canaliculata* no depende de la calidad del agua sino de las características intrínsecas de las poblaciones, se espera encontrar diferencias entre arroyos, pero dentro de ellos.

Para testear estas hipótesis se realizó un ANOVA factorial de 3 vías con los factores “Arroyos” con 4 niveles (Martín, Pescado, Zapata y Buñirigo), “Tratamiento”, con 2 niveles (a y b) y “tiempo” con 7 niveles (semanas 1, 2, 3, 5, 7, 9 y 11). Para comparaciones *a posteriori* se utilizó el test SNK.

RESULTADOS

Rasgos poblacionales de *Hyaella curvispina*

⊙ Densidad y Biomasa

La densidad de *H. curvispina* mostró una importante variabilidad temporal. En el muestreo de noviembre de 2009 esta variable fue significativamente mayor en el arroyo periurbano Martín que en los demás arroyos (2300 ± 1000 ind/m² frente a valores menores a 900 ind/m²; $p = 0,007$). En el muestreo de noviembre de 2010, en cambio, las mayores densidades se registraron en los arroyos Zapata y Buñirigo (valores mayores a 3500 ind/m²) y las menores en los arroyos Martín y Pescado (155 ± 22 ind/m² y 1200 ± 152 ind/m², respectivamente; $p = 0,01$). En la Fig. 3.7 se muestran los valores de densidad en cada arroyo por fecha de muestreo, junto con la cobertura vegetal (de plantas sumergidas, flotantes y palustres). No se observó una correlación significativa entre la abundancia de *H. curvispina* y el grado de cobertura de los distintos tipos de plantas.

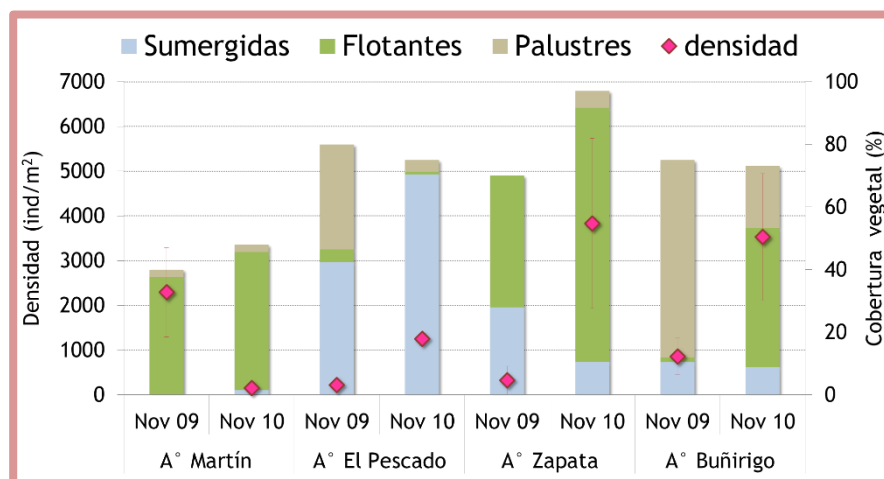


Fig. 3. 7. Valores de **densidad** de *Hyaella curvispina* y **cobertura de vegetal** de los distintos tipos de plantas registrados en los muestreos de noviembre de 2009 (Nov 09) y noviembre de 2010 (Nov 10) en los cuatro arroyos (A°) estudiados. Las letras indican las diferencias espaciales significativas entre las muestras (en mayúscula para las de 2009 y minúsculas las de 2010)

Los valores promedio de biomasa también presentaron una importante variabilidad temporal dentro y entre arroyos (Fig. 3.8). En concordancia con los datos de densidad, en el muestreo del 2009 la biomasa registrada en el arroyo Martín fue mayor que en los demás sitios (1650 ± 750 mg/m² frente a valores menores a 150 mg/m²; $p = 0,002$), mientras que en el muestreo de 2010 la biomasa de anfípodos en ese arroyo fue la menor (100 ± 20 mg/m²), seguida por los valores del arroyo El Pescado (183 ± 18 mg/m²), luego los del Buñirigo (740 ± 640 mg/m²) y por último los del Zapata (1100 ± 100 mg/m²); no obstante, las diferencias en biomasa entre las distintas poblaciones en este muestreo no fueron estadísticamente significativas.

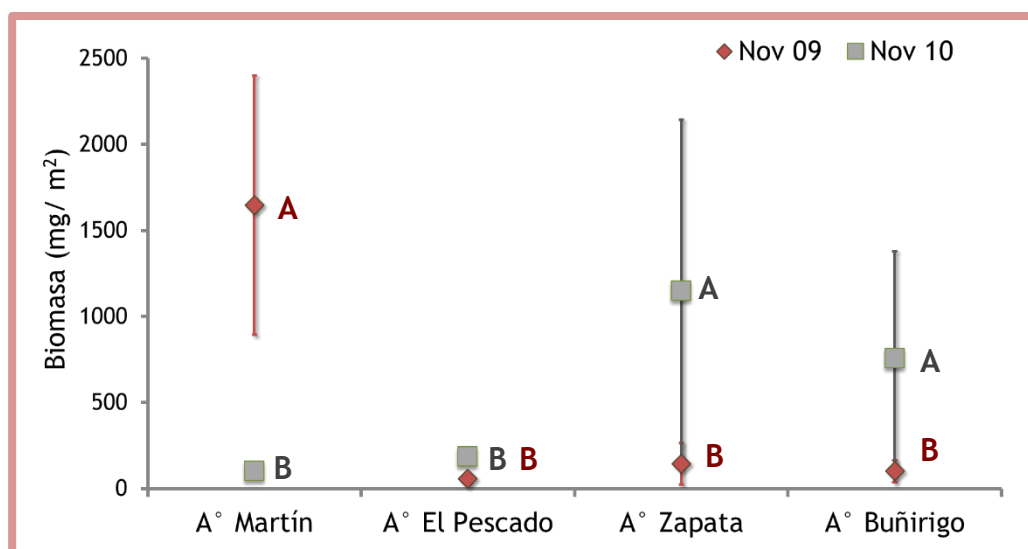


Fig. 3.8. Valores medios de biomasa de *Hyalella curvispina* en los muestreos de noviembre 2009 (Nov 09) y 2010 (Nov 10) en los cuatro arroyos (A°) estudiados. Las letras indican las diferencias espaciales significativas entre las muestras (en mayúscula para las de 2009 y minúsculas las de 2010).

⊙ Distribución de Tallas, Estructura Etaria y Proporción de sexos

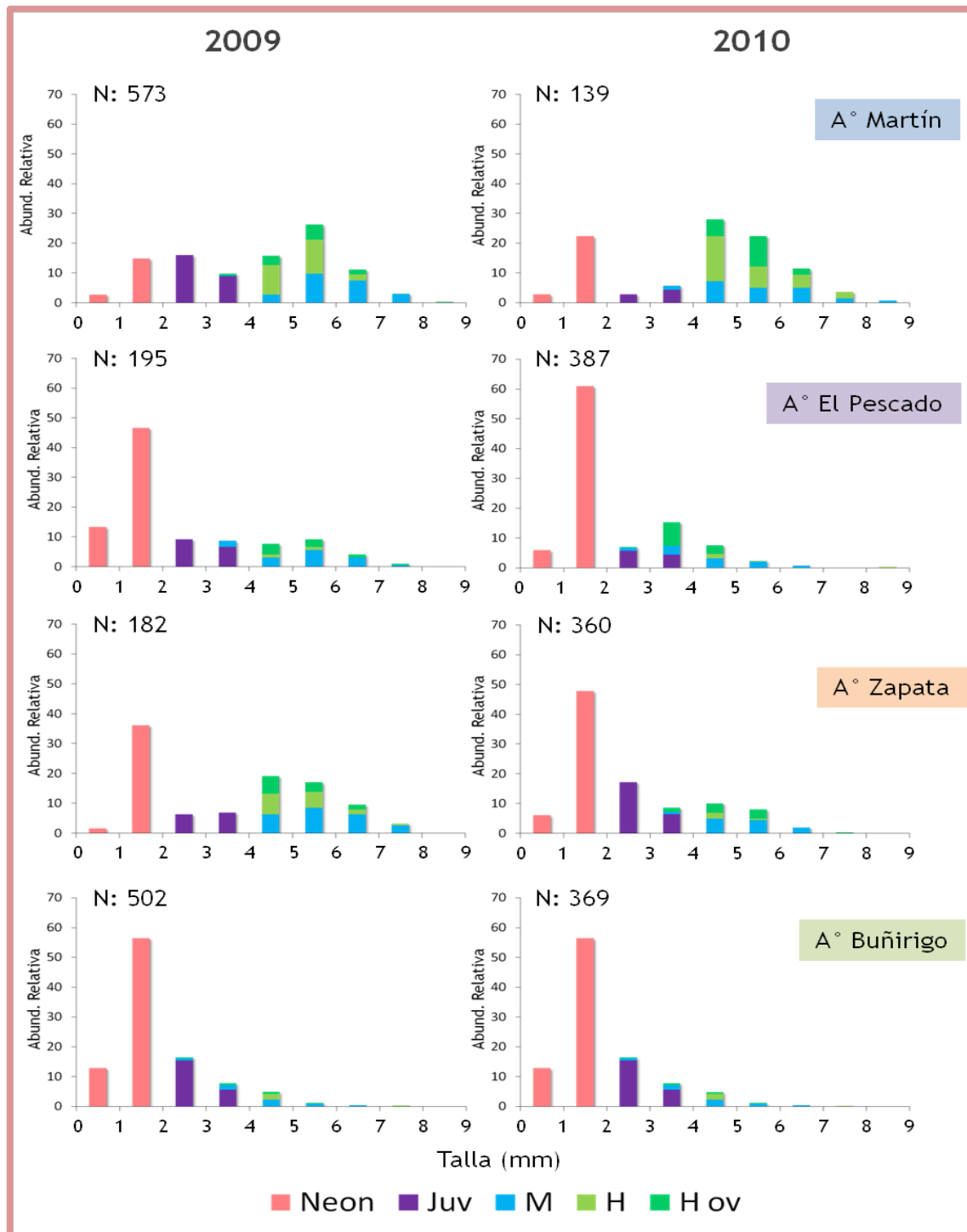
Los individuos de *H. curvispina* midieron entre 0,6 y 9,0 mm. En la tabla 3. 3 se exhiben la abundancia relativa (%) y las tallas promedio de cada clase etaria calculadas en base a todos los individuos analizados (N: 2707). En esta tabla se observa que los neonatos y juveniles representaron más del 50% de la abundancia relativa promedio y que las hembras fueron de menor talla que los machos.

Tabla 3.3. Abundancia relativa (Ab. Relat.) y tallas promedio (mm) de cada clase etaria de *Hyalella curvispina*. Hembras ov.: hembras ovígeras.

	Ab. Relat (%)	Talla (mm)
Neonatos	49	1,46 ($\pm 0,12$)
Juveniles	19	2,90 ($\pm 0,19$)
Machos	14	5,81 ($\pm 0,75$)
Hembras	9	4,98 ($\pm 0,56$)
Hembras ov.	9	4,82 ($\pm 0,70$)

La distribución de tallas de las poblaciones de *H. curvispina* correspondientes a los distintos arroyos estudiados se exhibe en la figura 3.9. Todas las categorías estuvieron representadas en los cuatro arroyos en ambos muestreos. La población del arroyo Martín exhibió una distribución bimodal de las tallas, con un pico de abundancia entre los neonatos (1 y 2 mm) y otro entre los adultos de entre 4 y 6 mm. En este arroyo se encontró la menor abundancia relativa de neonatos y juveniles y la mayor proporción de adultos, los cuales alcanzaron hasta 9 mm de longitud. También se destaca que en ambos muestreos este arroyo presentó la mayor abundancia de hembras ovígeras ($15 \pm 4\%$). En general, los neonatos y juveniles fueron las clases etarias mejor representadas en las poblaciones de los otros tres arroyos. Cabe destacar que en las muestras tomadas en el arroyo Buñirigo los individuos mostraron menores tallas (hasta 7 mm) y que en este sitio se registró la menor abundancia relativa de hembras ovígeras ($6 \pm 6\%$).

La proporción de Machos: Hembras fue en promedio 1:1 en todas las poblaciones estudiadas, a excepción de la población del arroyo Martín, en la que esta proporción fue menor en ambos muestreos (0,6:1).



☉ Fecundidad

La fecundidad promedio de las hembras de *H. curvispina* fue de 28 ± 15 huevos/hembra. El mínimo número de huevos contabilizado en el marsupio de una hembra fue de 7 y el máximo de 101 huevos. La fecundidad promedio total no exhibió diferencias temporales significativas (31 ± 11 huevos/hembra en 2009 y 28 ± 8 huevos/hembra en 2010). Las hembras del arroyo Buñirigo presentaron los menores valores medios de fecundidad en ambos muestreos (21 huevos/hembra frente a valores superiores a los 30 huevos/hembra en los demás arroyos), aunque en el muestreo de 2010 también fue baja la fecundidad de las hembras del arroyo el Pescado (19 ± 2 huevos/hembra). En la figura 3.10 se exponen los valores de fecundidad registrados por arroyo en los muestreos de 2009 y 2010. Sólo las hembras del arroyo El Pescado mostraron diferencias temporales significativas en la fecundidad ($p = 0,02$), registrándose menores valores en el muestreo de noviembre de 2010 respecto al del año anterior.

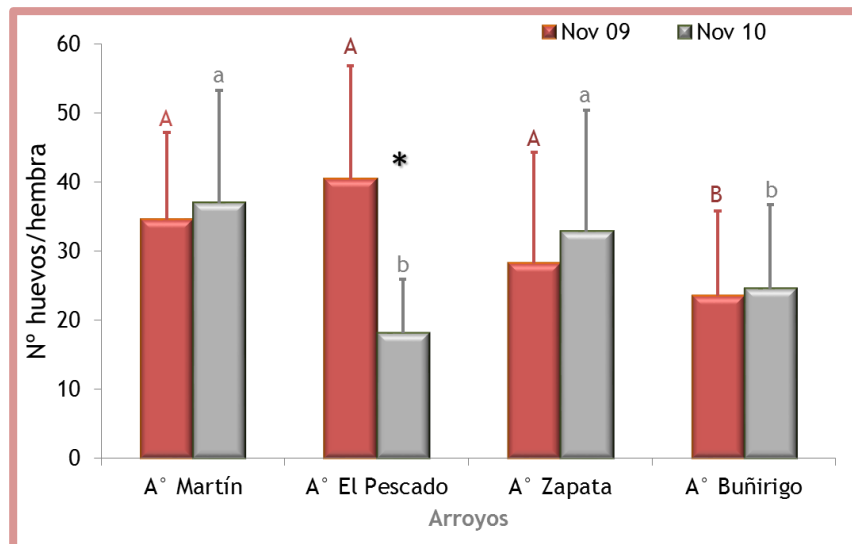


Fig.3.10. Fecundidad promedio de las hembras de *Hyalella curvispina* de los arroyos muestreados (A°) en Noviembre de 2009 (Nov 09) y Noviembre de 2010 (Nov 10). Las letras mayúsculas exhiben las diferencias espaciales en Nov 09 y las minúsculas en Nov 10. El asterisco señala diferencias temporales significativas.

Las tallas promedio de las hembras de las distintas poblaciones medidas en los muestreos de 2009 y 2010 se exhiben en la tabla 3.4. El tamaño promedio de las hembras ovígeras fue de $4,8 \pm 0,9$ mm. Las hembras del arroyo Buñirigo presentaron hembras pequeñas en ambos muestreos, mientras que las de El Pescado presentaron tallas

significativamente menores en el muestreo del 2010 respecto al año anterior ($p < 0,001$), coincidiendo con la menor fecundidad registrada también para esa fecha. La correlación de la talla con la fecundidad adquirió un valor de r^2 de 0,72 y se hallaron diferencias significativas sólo entre las pendientes la población del arroyo Zapata ($b = 5,6$) y la de El Pescado ($b = 10,8$; Fig. 3.11).

Tabla 3.4. Valores promedio de tallas de hembras ovígeras de *Hyalella curvispina* de los distintos arroyos muestreados en noviembre de 2009 (Nov 09) y noviembre de 2010 (Nov 10) y los agrupamientos generados por el test SNK en base a sus diferencias.

Categorías	Media	Agrupamientos
Martín Nov 09	5,46	A
Martín Nov 10	5,42	A
El Pescado Nov 09	5,42	A
Zapata Nov 09	5,33	A
Zapata Nov 10	4,99	A
Buñirigo Nov 10	4,46	B
Buñirigo Nov 09	3,90	C
El Pescado Nov 10	3,78	C

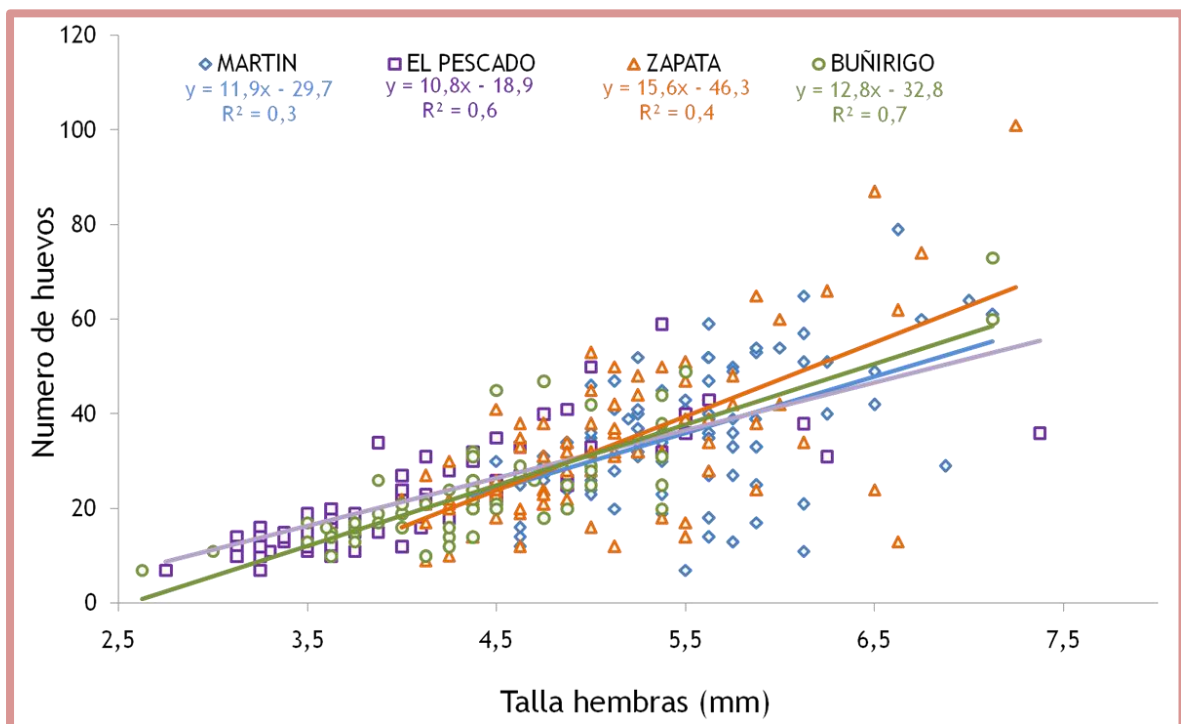


Fig. 3.11. Correlación entre la talla de las hembras de *Hyalella curvispina* y el número de huevos presentes en el marsupio (fecundidad) para cada arroyo.

Rasgos poblacionales de *Pomacea canaliculata*

⊙ Densidad y Biomasa

En los cuatro arroyos estudiados, tanto la abundancia como la biomasa de *P. canaliculata* alcanzaron sus valores más elevados en **marzo de 2010**, motivo por el cual solo se realizó el análisis estadístico de tales variables con los datos registrados en ese muestreo (Tabla 3.5). Los mayores valores de abundancia relativa y biomasa correspondieron a las poblaciones de los arroyos Martín y Zapata, mientras que los valores más bajos se obtuvieron en el arroyo Buñirigo (7 ± 11 ind/UE de abundancia y 5 ± 9 mg/UE de biomasa). Los individuos de este último arroyo fueron los de mayor talla promedio (32 ± 8 mm). Los caracoles del arroyo El Pescado, en cambio, exhibieron la menor talla promedio (11 ± 8 mm) y mostraron valores intermedios a bajos, tanto de abundancia (36 ± 36 ind/UE) como de biomasa (6 ± 5 mg/UE) (Tabla 3.5).

Tabla 3.5. Valores de abundancia, biomasa y tamaño (LT) de los individuos de *Pomacea canaliculata* presentes en el área de estudio, registrados en los muestreos de noviembre de 2009 (Nov 09), marzo de 2010 (Mar 10) y noviembre de 2010 (Nov 10). Ind: individuos; UE: Unidad de Esfuerzo (= 10').

Arroyo	Muestreo	Abundancia (ind/UE)	Biomasa prom. (mg/ ind)	Biomasa (mg/UE)	LT (mm)
Martín	Nov 09	17 (± 6)	0,13 ($\pm 0,04$)	2 (± 1)	20 (± 3)
	Mar 10	113 (± 70) ^A	0,37 ($\pm 0,11$) ^{NS}	19 (± 3) ^A	24 (± 3) ^{NS}
	Nov 10	48 (± 17)	0,20 ($\pm 0,06$)	6 (± 2)	21 (± 2)
El Pescado	Nov 09	5 (± 7)	0,39 ($\pm 0,47$)	2 (± 2)	21 (± 16)
	Mar 10	36 (± 36) ^{AB}	0,20 ($\pm 0,16$) ^{NS}	6 (± 5) ^B	11 (± 8) ^{NS}
	Nov 10	5 (± 5)	0,70 ($\pm 1,00$)	2 (± 1)	26 (± 14)
Zapata	Nov 09	6 (± 1)	0,24 ($\pm 0,22$)	1 (± 1)	21 (± 8)
	Mar 10	95 (± 37) ^A	0,78 ($\pm 0,36$) ^{NS}	25 (± 7) ^A	24 (± 7) ^{NS}
	Nov 10	32 (± 16)	0,49 ($\pm 0,23$)	13 (± 8)	27 (± 3)
Buñirigo	Nov 09	0	-	-	-
	Mar 10	7 (± 11) ^B	0,66 ($\pm 0,66$) ^{NS}	5 (± 9) ^B	32 (± 8) ^{NS}
	Nov 10	2 (± 1)	1,12 ($\pm 1,02$)	3 (± 3)	30 (± 21)

*Las letras indican las diferencias arrojadas por el SNK. NS: diferencias no significativas

⊙ Distribución de tallas, estructura etaria y proporción de sexos

El rango de tamaños (LT) de los individuos de *P. canaliculata* estuvo comprendido entre los 3 y los 58 mm, con un valor promedio de 23 ± 12 mm. En la figura 3.12 se muestra la distribución de tallas registrada en los tres muestreos (noviembre de 2009, marzo de 2010 y noviembre de 2010) para las poblaciones de esta especie correspondientes a los arroyos Martín, El Pescado, Zapata y Buñirigo. En esa figura se puede apreciar que en el muestreo de noviembre de 2009 la mayoría de los individuos de los cuatro sitios fueron juveniles o adultos de sexo no determinado que midieron entre 10 y 30 mm de largo, con algunos machos y hembras de tallas mayores. En esa fecha no se hallaron ejemplares de *P. canaliculata* en el A° Buñirigo, aunque sí masas de huevos frescas en la vegetación, lo que sugirió la presencia de esta especie en ese sitio. En el marzo de 2010, en el arroyo Martín se observó una proporción similar de juveniles (de 3 a 20 mm) y adultos (de 20 a 45 mm). Los individuos de los arroyos El Pescado y Zapata, en cambio, fueron en su mayoría juveniles (de 5 a 20 mm) y la abundancia relativa de adultos fue muy baja. En el arroyo Buñirigo se hallaron escasos ejemplares, distribuidos entre las tallas de 5 a 55 mm, siendo mayor la abundancia de adultos (64%) que la de juveniles (36%). En noviembre de 2010, los individuos del A° Martín estuvieron comprendidos entre 5 y 35 mm y la proporción de juveniles y adultos fue nuevamente similar, mientras que en el arroyo El Pescado la mayoría de los individuos fueron juveniles (de 5 a 25 mm) y los caracoles adultos alcanzaron tallas máximas cercanas a los 55 mm. Los caracoles del arroyo Zapata abarcaron tallas desde los 5 mm hasta los 50 mm, estando la mayoría comprendidos entre los 15 y los 40 mm. En este muestreo los adultos fueron más abundantes que los juveniles (65% y 35% respectivamente). Los escasos ejemplares colectados en el A° Buñirigo fueron todos adultos de entre 30 y 55 mm.

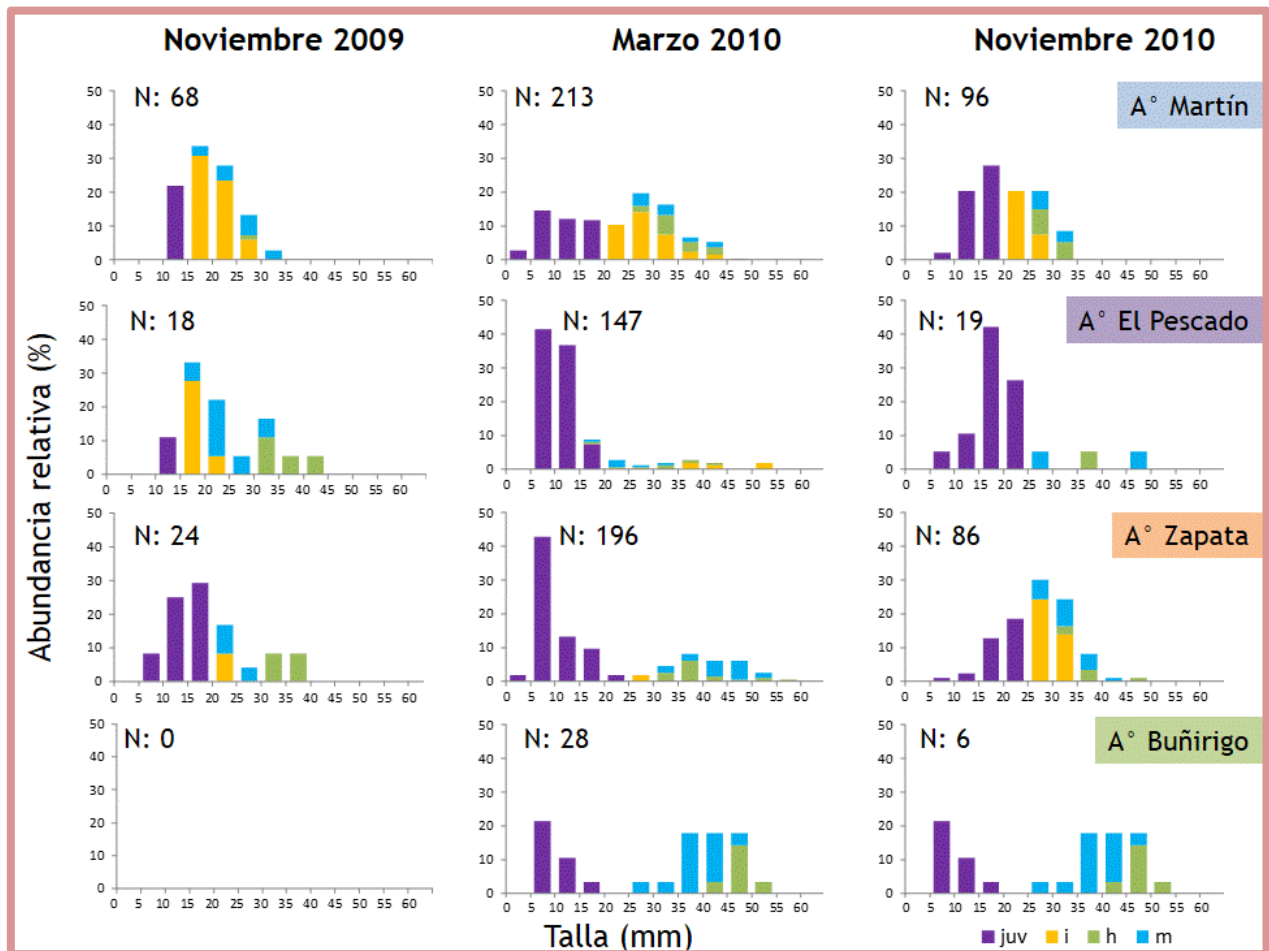


Fig. 3.12. Distribución de tallas y abundancias relativas de las distintas clases etarias de las poblaciones de *Pomacea canaliculata* pertenecientes a los arroyos Martín, El Pesado, Zapata y Buñirigo colectados en los tres muestreos (noviembre 2009, marzo 2010 y noviembre 2010). N: total de caracoles en la muestra; LT: largo total; juv: juveniles; i: individuos de sexo indeterminado; h: hembras; m: machos.

En la tabla 3.6 se resumen las tallas medias de cada clase etaria de las poblaciones de los cuatro sitios de muestreo. Los adultos (machos y hembras) del arroyo Buñirigo presentaron la mayores talla promedio (43 ± 4 mm), mientras que los del arroyo Martín exhibieron la menor (29 ± 4 mm); no obstante, las tallas promedio de cada clase etaria no fueron significativamente diferentes entre los distintos arroyos.

Tabla 3.6. Promedio (\pm SD) de las tallas LT (mm) de cada clase etaria correspondientes a las cuatro poblaciones estudiadas de *Pomacea canaliculata*.

	A° Martín	A° El Pescado	A° Zapata	A° Buñirigo
Juveniles	15 (± 2)	14 (± 4)	15 (± 5)	9 (± 3)
Hembras	29 (± 6)	37 (± 4)	40 (± 6)	44 (± 5)
Machos	29 (± 4)	30 (± 7)	34 (± 9)	42 (± 3)

La proporción de machos:hembras fue muy variable tanto entre las poblaciones, como entre años de muestreo. En marzo de 2010, la relación M:H fue mínima en el arroyo Martín (0,75:1), máxima en el arroyo Buñirigo (2:1) e intermedia en El Pescado y Zapata (1,3:1).

⊙ Fecundidad

La fecundidad promedio de *P. canaliculata* fue de 264 ± 133 huevos por puesta/hembra y adquirió un valor máximo de 614 huevos en una puesta proveniente del arroyo El Pescado y mínimo de 47 huevos, registrado para una puesta del arroyo Martín. La fecundidad media y el tamaño promedio de los huevos de las puestas de los distintos arroyos se presenta en la figura 3.13. La fecundidad exhibió diferencias espaciales significativas ($p < 0,001$), siendo mayor en las del arroyo Zapata (367 ± 136 huevos por puesta) y menor en las del Martín (173 ± 136 huevos por puesta). El tamaño de los huevos fue de $2,8 \pm 0,4$ mm y no presentó diferencias significativas entre sitios.

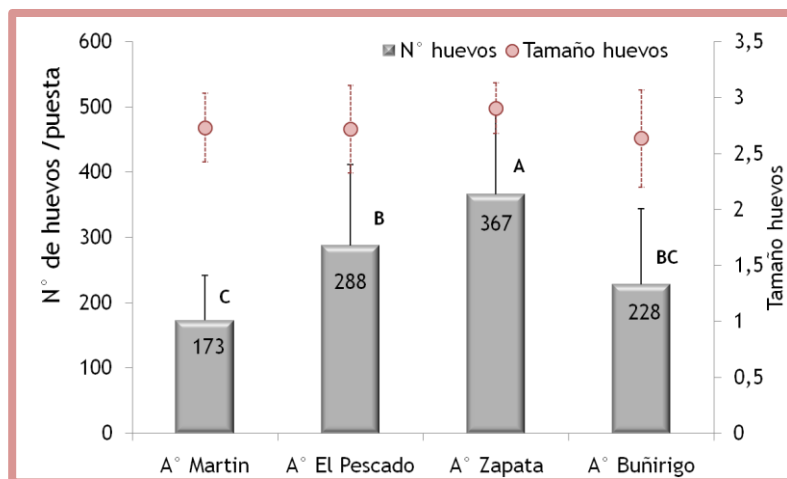


Fig. 3.13. Fecundidad (n° promedio de huevos/puesta) y tamaño promedio de huevos (segundo eje) de puestas de *Pomacea canaliculata* colectadas en los distintos arroyos (A°).

○ Fertilidad

La fertilidad media de *P. canaliculata* fue de 84% ($\pm 12\%$) y presentó diferencias entre los sitios de muestreo ($p < 0,001$). Las puestas que exhibieron mayor fertilidad fueron las provenientes de los arroyos El Pescado y Buñirigo (89 y 88 %, respectivamente), seguidas por las del Zapata (80%) (Fig. 3.14 b-d). Las puestas del arroyo Martín presentaron la menor fertilidad (76%), con el mayor porcentaje de huevos no desarrollados (11%; Fig. 3.14 a). Estas diferencias en los valores de fecundidad entre las poblaciones de los arroyos estudiados resultaron significativas (los agrupamientos resultantes del test SNK se indican con las mayúsculas en la Fig. 3. 14).

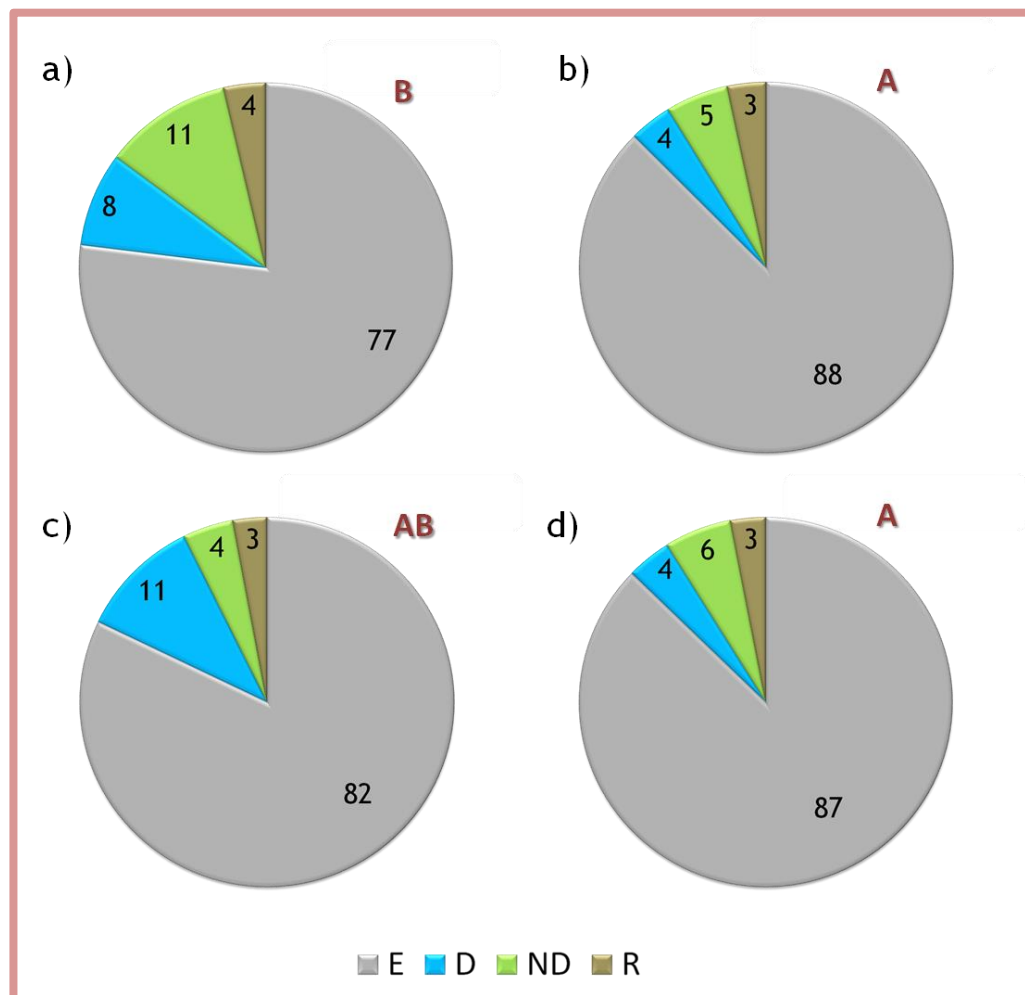


Fig. 3.14. Fertilidad de *Pomacea canaliculata* en los arroyos Martín (a), El Pescado (b), Zapata (c) y Buñirigo (d). E: huevos eclosionados; D: huevos desarrollados (con embrión) no eclosionados; ND: huevos no desarrollados (sin embrión); R: huevos rotos. Las letras mayúsculas indican los agrupamientos arrojados por el SNK en base a la fertilidad.

○ Crecimiento individual de neonatos

Para la curva de crecimiento promedio, se utilizaron los datos de todos los tratamientos (sin discriminar por sitio ni por tipo de agua). Ésta se ajustó a una función polinómica (grado 3), con un ajuste R^2 de 0,997 (Fig. 3.15). En general, la tasa de crecimiento fue máxima hasta la novena semana, momento a partir del cual comenzó a disminuir (Fig. 3. 15; tasa de crecimiento).

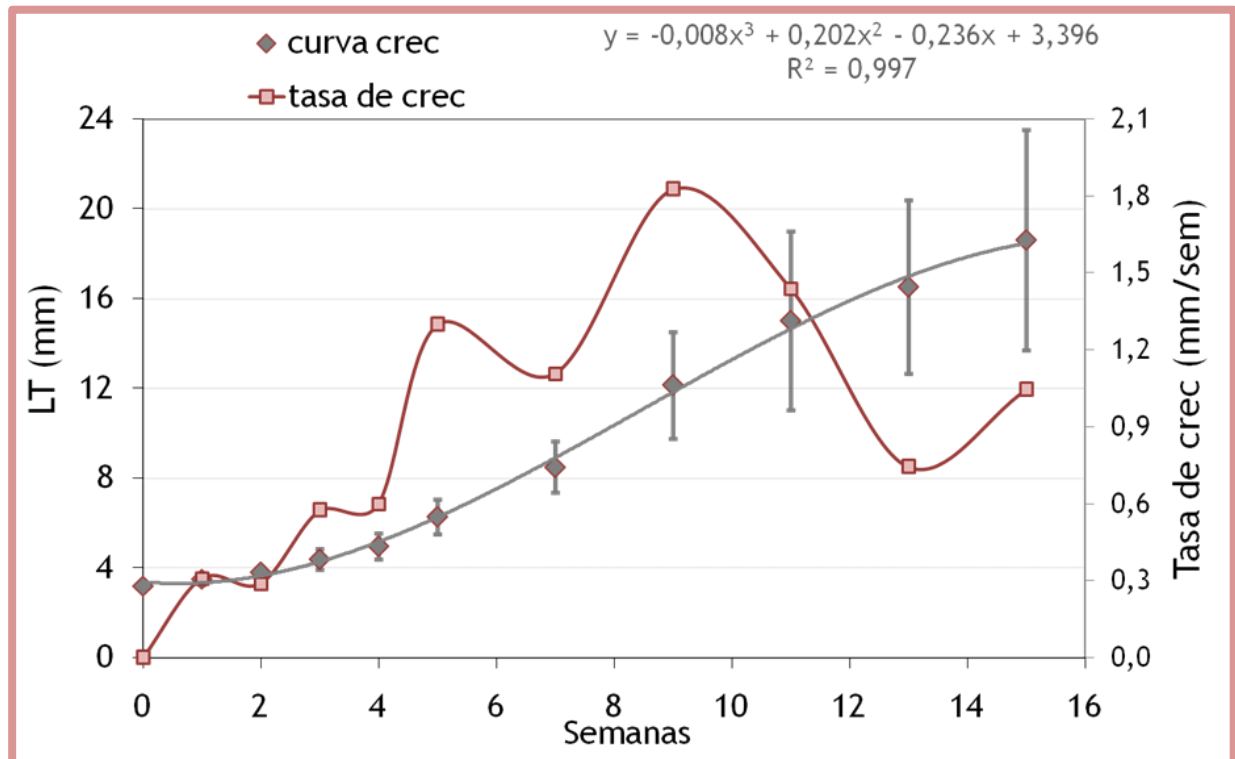


fig. 3. 15. Curva de crecimiento promedio de los individuos de *Pomacea canaliculata*. En rojo se muestra la tasa de crecimiento.

Al inicio de esta experiencia, inmediatamente después de la eclosión, los neonatos de *P. canaliculata* presentaron una talla media de 3,2 mm ($\pm 0,2$ mm) y mostraron diferencias significativas según el arroyo de procedencia ($p < 0,001$), siendo mayores los del Zapata (3,4 mm), intermedios los de El Pescado y Buñirigo (3,2 mm) y menores los del Martín (3,1 mm). Hacia el final de la experiencia (semana 15) los caracoles alcanzaron una talla promedio de 18 ± 5 mm y no se hallaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 3.7).

Tabla 3.7. Tabla de ANOVA en base a los resultados de la experiencia de crecimiento de *Pomacea canaliculata*. N.A: no analizado; NS: diferencias no significativas; x: factor principal no analizado por interacciones significativas.

Fuente	Niveles	gl	F	p	SNK
Arroyo (A°)	4	3	20,16	<0,05	x
Tiempo (t)	11	6	95,57	<0,05	x
Tratamiento (tto)	2	1	127,52	<0,05	x
A° x t		18	43,61	<0,05	Factor A° t1-t7: NS; t8: Z=B<M=P t9: M<B=P=Z t10: B< P=Z=M Factor t: N.A.
A° x tto		3	11,13	<0,05	Factor A°, tto a: N.S; tto b: B< Z=P=M Factor tto, M : a<b; P, Z y B: a=b
t x tto		6	0,17	0,98	Factor t: N.A Factor tto: N.A
A° x t x tto		18	0,41	0,98	Factor A° (tto x t): t1-t8 a y t1-t7 b: NS; t8 b : Z=B<P=M t9 a: M< Z=P=B t9 b: B=M=P< Z t10 a y b: NS Factor t (A° x tto): N.A Factor tto (A° x t): M t7 y 9: a≠b; P t9: a≠b ; Z y B t1-10: a = b

En la figura 3.16 (a-d) se pueden apreciar las curvas de crecimiento de los caracoles de los cuatro arroyos en agua de los arroyos (tratamientos “a”) y en agua de referencia (tratamientos “b”). Como se observa en la tabla 3.8, sólo el crecimiento de los caracoles del arroyo Martín exhibió diferencias significativas en relación al tipo de agua, siendo significativamente mayor la pendiente del tratamiento de caracoles expuestos a agua de referencia, Mb.

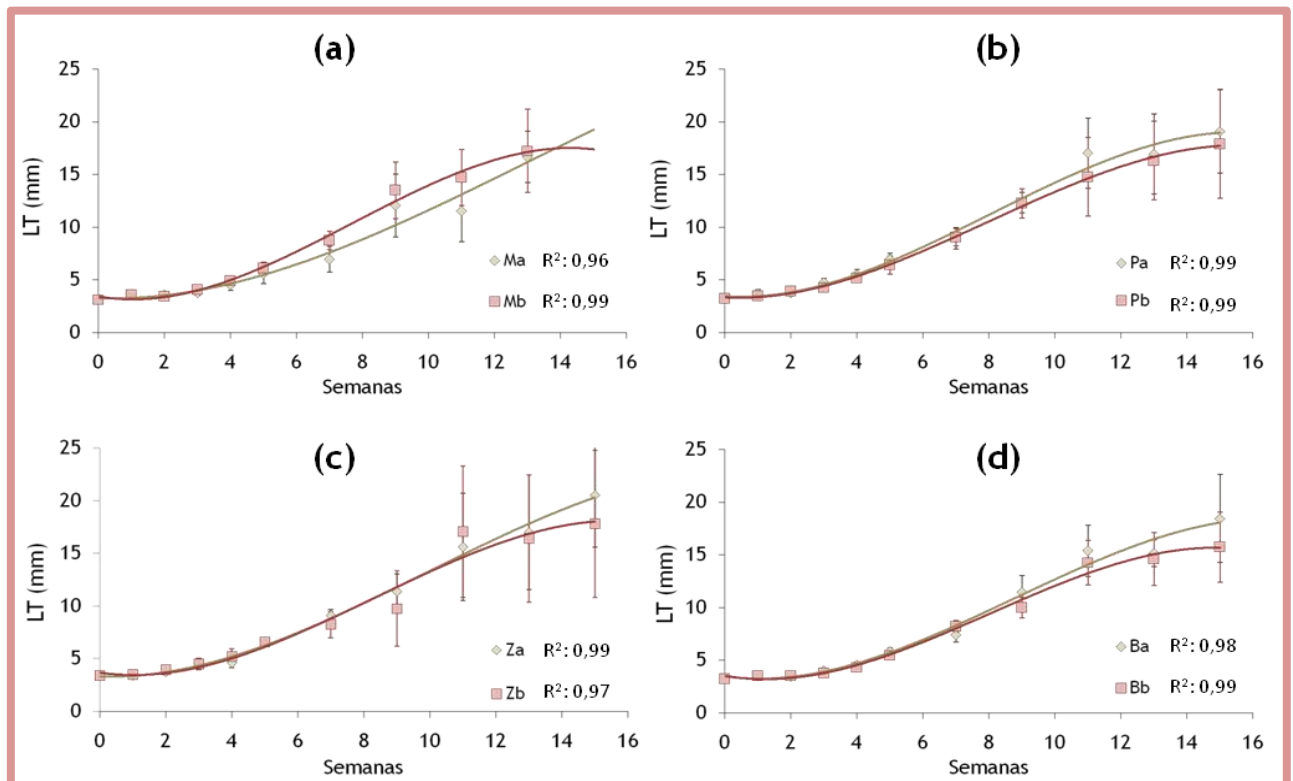


Fig. 3.16. Curvas de crecimiento de los caracoles de los distintos arroyos expuestos a los tratamientos con agua del arroyo (Ma, Pa, Za y Ba) y agua mineral comercial (Mb, Pb, Zb y Bb). a. A° Martín (M), b. A° El Pescado (P); c. A° Zapata (Z) y d. A° Buñirigo (B).

Tabla 3.8. Comparación de pendientes de las curvas de crecimiento de *Pomacea canaliculata*. Agrupamientos de las comparaciones de pendientes arrojados por el test de Tukey.

Tratamiento	Grupos	
Mb	A	
Pa	A	B
Ba	A	B
Pb	A	B
Za	A	B
Bb		B
Ma	B	
Zb		B

En la tabla 3.9 se exhiben los valores promedios de LT, coeficientes de variación de LT y biomasa medidos al final de la experiencia de crecimiento en los ocho tratamientos. No se hallaron diferencias significativas en el tamaño final y la biomasa de los caracoles de todos los tratamientos. Los caracoles de mayor talla final fueron los del tratamiento **Za** (21 ± 5 mm) y los menores fueron los del **Ba** (18 ± 3 mm). El coeficiente de variación promedio de las tallas finales de los caracoles fue del 23%, aunque en el tratamiento **Zb** alcanzó un valor máximo de 40% (resultante de las grandes diferencias de talla entre los caracoles del mismo tratamiento)

Tabla 3.9. Promedio (\pm DE) de las tallas (LT) y biomasa finales de caracoles de los distintos tratamientos. Coef de var: coeficiente de variación de las tallas finales.

	Ma	Mb	Pa	Pb	Za	Zb	Ba	Bb
LT prom	18,8 (± 3)	20 (± 4)	18 (± 4)	19 (± 5)	21 (± 5)	19 (± 8)	17 (± 4)	17 (± 4)
Coef de var (%)	15	20	20	25	24	40	20	20
Biomasa prom	0,20 ($\pm 0,07$)	0,21 ($\pm 0,10$)	0,25 ($\pm 0,14$)	0,30 ($\pm 0,19$)	0,25 ($\pm 0,10$)	0,19 ($\pm 0,17$)	0,24 ($\pm 0,12$)	0,24 ($\pm 0,12$)

En la tabla 3.10 se exponen los valores promedio de las variables físico-químicas del agua de los distintos tratamientos medidos durante la experiencia. El pH fue ligeramente básico ($7,8 \pm 0,4$) y no se hallaron diferencias significativas entre los tratamientos. Por otra parte, la conductividad, alcanzó mayores valores medios en el agua de los arroyos que en la de referencia (785 ± 450 μ S/cm y 228 ± 43 μ S/cm, respectivamente), siendo tales diferencias significativas ($p < 0,001$). La temperatura promedio del agua fue de 21 ± 2 °C; esta variable también exhibió diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,001$), siendo mayor en los tratamientos Ma y Mb (22 °C), intermedia en Pb y Zb (21 °C) y más baja en los demás tratamientos (20 °C).

Los nutrientes y demandas química y bioquímica de oxígeno (DQO y DBO₅, respectivamente) sólo fueron medidos en el agua proveniente de los arroyos. En los arroyos Martín y Buñirigo se registraron las mayores concentraciones de PRS (0,52 y 0,54 mg P/l). Por otra parte, las menores concentraciones de nutrientes de nitrógeno fueron medidas en los arroyos Martín y El Pescado (Tabla 3.10). La DBO₅ adquirió un valor medio máximo en el agua del arroyo Zapata (12 mg O₂/l frente a valores menor o igual a 8 mg

O₂/l en los demás arroyos), mientras que el mayor valor medio de DQO (22±2) fue medido en el arroyo Martín.

Tabla 3.10. Variables físico-químicas del agua de las experiencias de crecimiento y supervivencia. **Tto:** tratamiento; **Cond:** Conductividad; **Temp:** temperatura; **PRS:** Fósforo Reactivo Soluble; **NO₃⁻:** nitratos; **NO₂⁻:** nitritos; **NH₄⁺:** amonio; **DBO₅:** Demanda Bioquímica de oxígeno; **DQO:** Demanda química de oxígeno.

Arroyo	Tto	pH	Cond (μS/cm)	Temp. (°C)	PRS (mgP/L)	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻ (mg N/L)	NH ₄ ⁺	DBO ₅	DQO (mg O ₂ /L)
Martín	Ma	7,9 (±0,3)	917 (±570)	22 (±2)	0,52 (±0,53)	0,07 (±0,07)	0,02 (±0,02)	0,11 (±0,05)	8 (±5)	22 (±2)
	Mb	8,1 (±0,2)	220 (±7)	22 (±1)	-	-	-	-	-	-
El Pescado	Pa	8,0 (±0,4)	769 (±372)	20 (±2)	0,18 (±0,21)	0,31 (±0,41)	0,03 (±0,03)	0,06 (±0,05)	8 (±4)	20 (±9)
	Pb	7,5 (±0,5)	233 (±49)	21 (±3)	-	-	-	-	-	-
Zapata	Za	7,7 (±0,3)	632 (±343)	20 (±2)	0,17 (±0,09)	0,58 (±1,27)	0,02 (±0,02)	0,13 (±0,13)	12 (±4)	21 (±4)
	Zb	7,6 (±0,5)	216 (±75)	21 (±2)	-	-	-	-	-	-
Buñirgo	Ba	7,8 (±0,4)	825 (±625)	20 (±2)	0,54 (±0,37)	0,68 (±1,09)	0,03 (±0,03)	0,59 (±0,46)	7 (±5)	16 (±7)
	Bb	7,6 (±0,5)	242 (±57)	20 (±3)	-	-	-	-	-	-

⊙ Supervivencia

Las curvas de supervivencia de *P. canaliculata* obtenidas en la experiencia de laboratorio luego de 11 semanas de exposición al agua de los correspondientes arroyos (tratamientos “a”) y agua mineral (tratamientos “b”), se exhiben en la figura 3.17. En general, la supervivencia de los caracoles provenientes de los distintos arroyos no mostró diferencias en respuesta al tipo de agua (diferencias entre los tratamientos a y b dentro de cada arroyo no significativas). Los caracoles de los arroyos Martín, Pescado y Buñirgo expuestos a ambos tipos de agua, mantuvieron una supervivencia cercana al 90% durante toda la experiencia, mientras que los caracoles provenientes de puestas colectadas en el A° Zapata manifestaron una supervivencia decreciente desde inicios de la experiencia hasta un valor promedio de 34%. Estas diferencias observadas hacia el final de la experiencia, entre los caracoles de éste y los demás arroyos fueron significativas (tabla 3.11).

Tabla 3.11. Tabla de ANOVA en base a los resultados de la experiencia de supervivencia de *Pomacea canaliculata*. N.A: no analizado; NS: diferencias no significativas; x: factor principal no analizado por interacciones significativas.

Fuente	Niveles	gl	F	p	SNK
Arroyo (A°)	4	3	20,16	<0,05	x
Tiempo (t)	7	6	95,57	<0,05	x
Tratamiento (tto)	2	1	127,52	<0,05	x
A° x t	18	43,61	<0,05	Factor A° t1: NS; t2-t7: Z<P=M=B Factor t: M, P, B: NS; Z: **	
A° x tto	3	11,13	<0,05	Factor A°, tto a: Z<P=M<B; tto b: Z<P<M=B Factor tto, M y Z: a<b; P y B: a=b	
t x tto	6	0,17	0,985	Factor t: N.A Factor tto: N.A	
A° x t x tto	18	0,41	0,982	Factor A° (tto x t): t1 a y b, t2 b: NS; t2-7 a: Z<P=M=B b t3-7 b: Z<P=M=B Factor t (A° x tto): M, P y B: a=b; Z: a≠b Factor tto (A° x t): M t1-5 y 7: a=b; t6: a≠b; P y B t1-7: a=b; Z t1-4: a<b, Z t5-7: a=b	

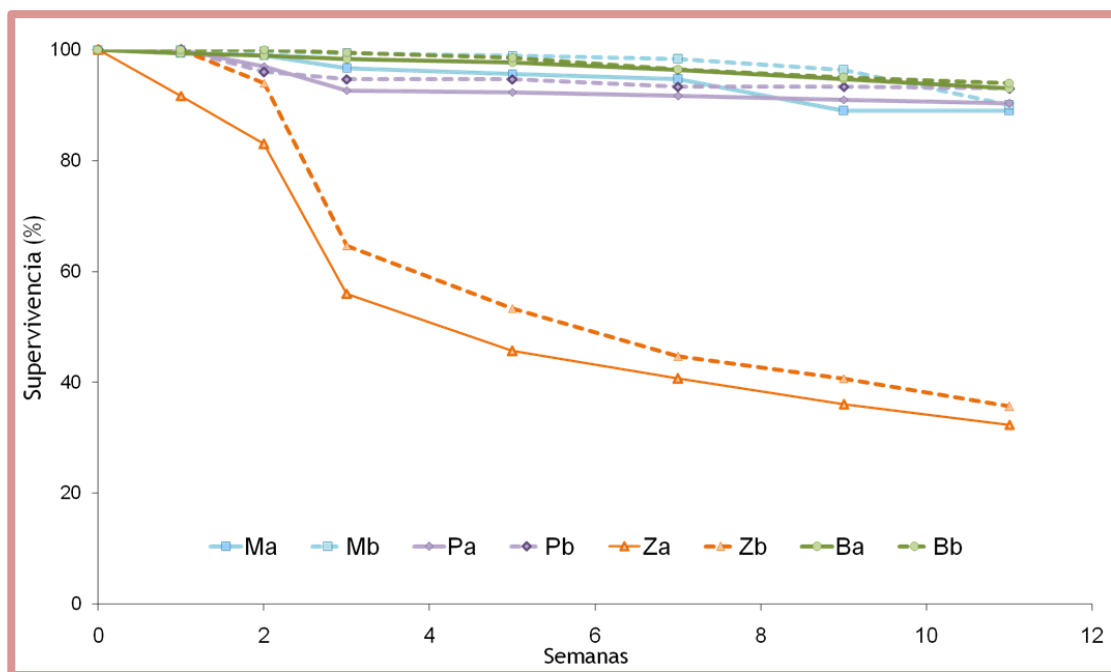


Fig. 3.17. Curvas de supervivencia de los caracoles en los distintos tratamientos “a” (expuestos al agua del arroyo, líneas enteras) y “b” (expuestos al agua de referencia, líneas punteadas) correspondientes a los distintos arroyos: Martín (Ma y Mb), El Pescado (Pa y Pb), Zapata (Za y Zb) y Buñirigo (Ba y Bb).

Luego de finalizada la experiencia, los caracoles de todos los tratamientos permanecieron en los acuarios durante cuatro semanas más (alcanzando 105 días de exposición) y luego fueron medidos y pesados (peso fresco, PF). Los caracoles del arroyo Zapata alcanzaron mayores tallas (LT) y peso (peso fresco) que los caracoles de los otros arroyos (tabla 3.12 y Fig. 3.18). El bajo número final de sobrevivientes en el tratamiento Mb que se observa en la tabla 3.12 es resultado de la muerte masiva de los caracoles entre la semana 12 y 15 de la experiencia, la cual fue producida por causas indeterminadas (Anexo III).

Tabla 3.12. Número, talla y peso fresco de caracoles expuestos a los distintos tratamientos que sobrevivieron luego de 105 días de exposición. Tto: Tratamiento; LT: Largo total; prom: promedio; min: mínimo; max: máximo; PF: peso fresco.

Arroyo	Tto	N final	LT prom (mm)	LT min (mm)	LT max (mm)	PF pool (g)	PF prom (g)
Martín	Ma	80	10,8	8,1	13,7	25,8	0,33 ($\pm 1,06$)
	Mb	22*	11,1	8,6	12,5	7,7	0,35 ($\pm 1,27$)
El Pescado	Pa	87	11,6	5,3	18,8	33,5	0,39 ($\pm 0,03$)
	Pb	94	12,0	5,9	20,1	40,4	0,43 ($\pm 0,19$)
Zapata	Za	29	16,3	5,8	28,4	35,4	1,21 ($\pm 0,08$)
	Zb	29	13,8	4,9	30,5	29,0	0,99 ($\pm 0,36$)
Buñirigo	Ba	87	11,3	6,8	19,0	30,4	0,34 ($\pm 0,02$)
	Bb	72	11,5	6,2	20,8	26,5	0,41 ($\pm 0,01$)

* número de caracoles sobrevivientes

Debido a que esta experiencia se llevó a cabo simultáneamente con la de crecimiento, los valores de las variables físico-químicas del agua son las mismas que las expuestas en la tabla 3.10 de la sección anterior.



Fig. 3. 18. Tamaño final de los caracoles provenientes de los arroyos Pescado (izquierda) y Zapata (derecha) luego de 105 días de exposición en la experiencia de supervivencia.

DISCUSIÓN

Rasgos poblacionales de *Hyaella curvispina*

La densidad y la biomasa de *H. curvispina* mostraron gran variabilidad espacial y temporal, lo cual coincide con los resultados obtenidos por otros autores (Casset *et al.*, 2001; Galassi *et al.*, 2006; García, 2008). Existen diversos factores naturales y antropogénicos que podrían afectar a la abundancia y biomasa de las poblaciones naturales de este anfípodo. Algunos autores, por ejemplo, hallaron una relación positiva entre la abundancia de *H. curvispina* y la conductividad (Miserendino y Pizzolón, 2000; Galassi *et al.*, 2006), e incluso también se ha sugerido que esta variable estaría implicada en la regulación de poblaciones naturales de *H. azteca* (Saussure, 1858) (Gibbons y Mackie, 1991). No obstante, los resultados de la presente investigación no muestran una tendencia que vincule las abundancias de *H. curvispina* con esta variable ya que, por ejemplo, la conductividad fue siempre baja en el arroyo Martín ($374 \pm 118 \mu\text{S/cm}$) y la más elevada en el Buñirigo ($1270 \pm 800 \mu\text{S/cm}$) y sin embargo en ambos arroyos presentaron picos alternados de máxima y mínima abundancia. Otro de los factores naturales a los que se ha asociado la abundancia de este anfípodo es la profundidad del cuerpo de agua. Galassi *et al.* (2006), por ejemplo, hallaron una relación positiva entre la profundidad y la abundancia del crustáceo en lagunas del Noreste argentino. Pero esta variable tampoco parece haber afectado a las poblaciones estudiadas en los arroyos

pampeanos, ya que las muestras fueron tomadas siempre en aguas someras, registrándose alternadamente densidades elevadas y bajas.

Una buena parte de la dieta de *H. curvispina* está constituida por los detritos presentes en el sedimento además del perifiton, fitobentos y tejidos vegetales como raíces y hojas pequeñas (Casset *et al.*, 2001; Saigo *et al.*, 2009). Por lo tanto, se esperaría que la abundancia de este anfípodo fuera mayor en sitios con un elevado contenido de materia orgánica en los sedimentos y elevada cobertura vegetal. Sin embargo, tampoco se observó una tendencia en relación a estas variables, ya que, por ejemplo en el muestreo del 2009, el contenido de materia orgánica bentónica y la cobertura vegetal registrados en el arroyo Martín fueron los más bajos (8% y 30%, respectivamente) y la abundancia de *H. curvispina* en ese sitio fue la más elevada (aproximadamente 1600 ind/m²); contrariamente, en la misma fecha en el arroyo Zapata, esas dos variables duplicaron los valores registrados en el arroyo Martín, mientras que la densidad del anfípodo fue un orden de magnitud más baja (alrededor de 145 ind/m²). Esto sugiere que la disponibilidad de alimentos no representó una variable determinante en la abundancia de *H. curvispina* en los sitios estudiados.

Además de alimento, las macrófitas proveen de refugio a muchos invertebrados pequeños, por lo que especies como *H. curvispina* suelen encontrarse en altas densidades asociadas a plantas sumergidas y flotantes no arraigadas (Giorgi *et al.*, 2005; Feijoó *et al.*, 1999; Casset *et al.*, 2001; Casagrande *et al.*, 2006; Galassi *et al.*, 2006). Sin embargo, en los sitios estudiados no se halló correlación entre la cobertura vegetal y la densidad de este anfípodo. Este resultado probablemente se deba a que la cobertura vegetal se evaluó en esta tesis a escala de tramo, mientras que las muestras de *H. curvispina* fueron tomadas en manchones de vegetación (escala de parche), sin ser contempladas las especies particulares de macrófitas ni su complejidad estructural (Ferreiro *et al.*, 2011).

El agua de escorrentía que alcanza los arroyos desde los campos cultivados, puede contener insecticidas con toxicidad persistente que conducen a un aumento en la mortalidad y migración de anfípodos como *H. curvispina* y *Gammarus pulex* L. 1758 (Shultz y Leiss, 1999; Jergentz *et al.* 2004). Dado que el muestreo de noviembre de 2009 fue realizado durante un período lluvioso, es posible que la menor densidad y biomasa de *curvispina* en los arroyos El Pescado, Zapata y Buñirigo en esa oportunidad sea

consecuencia del efecto de la contaminación proveniente de los campos aledaños a esos arroyos.

La estructura poblacional de *H. curvispina* en el arroyo Martín fue diferente a la de los demás sistemas lóticos estudiados, presentando la menor abundancia de neonatos y juveniles y la mayor cantidad de hembras ovígeras. Esto sugiere que esta población presenta un desfase temporal de su pico reproductivo, siendo más tardío que en las otras poblaciones. Estos resultados coinciden con los de Strong (1972), quien también halló estas diferencias entre poblaciones de *H. azteca* provenientes de cuerpos de agua cercanos entre sí. Adicionalmente, la menor abundancia de neonatos y juveniles podría estar vinculada a las concentraciones relativamente elevadas de cadmio en este arroyo, dado que los primeros estadios de vida de *H. curvispina* son más sensibles a este metal (García *et al.*, 2010).

Otro factor que afecta la estructura poblacional de *H. curvispina* es la predación. Las larvas de odonatos, hemípteros y algunos peces, ejercen una fuerte presión predatoria sobre los adultos de mayores tallas de *H. azteca* desplazando a la población hacia una estructura dominada por tallas más pequeñas (Wellborn, 1995). En los arroyos pampeanos, *H. curvispina* no solo suele ser presa de larvas de odonatos, sino que también es consumida por dos especies de peces presentes en los arroyos El Pescado, el Zapata y el Buñirigo: el bagre gris *Pimelodella laticeps* Eigenmann 1917 y la mojarra *Bryconamericus iheringii* Boulenger 1887 (Paracampo, 2012; Van Oosterom *et al.*, 2013). El aumento de la densidad de posibles predadores en noviembre de 2010 en el arroyo El Pescado permitiría explicar la menor talla de las hembras ovígeras que resultó, a su vez, en una menor fecundidad de las mismas. En el caso del arroyo Buñirigo, en el que las tallas de los adultos fueron siempre más pequeñas, cabe destacar la posibilidad de que la menor calidad del agua esté afectando de algún modo el crecimiento de los adultos de esta población, resultando a su vez en menores valores de fecundidad. En Australia, por ejemplo, poblaciones del anfípodo *Melita plumulosa* Zeidler, 1989 pertenecientes a un río altamente contaminado presentaron hembras más pequeñas y con menor fecundidad que las de un sitio no contaminado (Chung *et al.*, 2008).

El único arroyo en el que la proporción de sexos en ambos muestreos fue distinta a 1:1 fue en el arroyo Martín. Esto podría deberse a las numerosas descargas de aguas servidas volcadas al curso de este arroyo sin tratamiento previo (Fig. 3.19), dado que se

ha observado que contaminantes emergentes tales como los anticonceptivos, conducen a la desviación de la proporción de sexos a favor de las hembras en *H. azteca* (Vandenbergh *et al.*, 2003).



Fig. 3.19. Vertido domiciliario sin tratamiento previo hacia el arroyo Martín.

Rasgos poblacionales de *Pomacea canaliculata*

En contraposición a lo observado en las poblaciones de *H. curvispina*, la máxima abundancia de *P. canaliculata* en los cuatro arroyos se registró hacia fines del verano (marzo de 2010), coincidiendo con lo reportado por otros autores para poblaciones de esta especie en Hong Kong y para su congénere *P. maculata* (ex *insularum*) en Florida (Kwong *et al.*, 2009; Burlakova *et al.*, 2010). En climas templados, el descenso de la temperatura que acompaña al inicio del otoño induce a estos caracoles a la hibernación, restableciéndose la actividad normal en primavera, cuando *P. canaliculata* entra en su periodo reproductivo (Estebenet y Martín, 2002). Esto explica la mayor abundancia de este caracol en el muestreo de marzo, caracterizado por una mayor proporción de individuos nacidos en este período que se refleja en la distribución de tallas (Fig. 3.12).

Las diferencias interpoblacionales en abundancia y biomasa observadas en el muestreo de marzo del 2010, podrían deberse a diversas características registradas en los ambientes relacionadas tanto con la calidad del agua como con la calidad del hábitat de los distintos arroyos. En primer lugar, los mayores valores de temperatura registrados en los arroyos Martín y Zapata (29 y 27 °C , respectivamente) podrían haber resultado

más favorables para el desarrollo de *P. canaliculata* que las registradas en los arroyos Pescado y Buñirigo (23 y 21 °C, respectivamente), ya que está documentado que la temperatura es uno de los principales factores que regula la dinámica poblacional de los ampuláridos, ejerciendo efectos sobre el crecimiento, la supervivencia, la fecundidad y otros rasgos (Estebenet y Martín, 2002). Otra variable que influye sobre la presencia y abundancia de *P. canaliculata* en los arroyos es la cobertura y el tipo de vegetación, debido a que las plantas no sólo constituyen una fuente de alimento para los caracoles, sino que también les proveen refugio y un soporte para la respiración aérea (Martín *et al.*, 2001; Seuffert y Martín, 2010; Ferreira *et al.*, 2011). Si bien esta especie y otras emparentadas son polípagas (Cazzaniga y Estebenet, 1984), los adultos muestran preferencia por el consumo de ciertas especies de macrófitas sumergidas y flotantes, a las cuales eligen probablemente en función de su valor nutritivo y palatabilidad (Carlsson y Lacousière, 2005; Burlakova *et al.*, 2009; Qiu y Kwong, 2009). La macrófita más abundante en el arroyo Martín fue *Hydrocleys nymphoides*, sobre la cual se hallaron numerosos individuos ramoneando la cara abaxial de las hojas, lo cual sugiere que esta planta sería parte de su dieta (observación personal). En el arroyo Zapata se hallaron bien representadas las macrófitas sumergidas *Ceratophyllum demersum* y *Elodea callitrichoides* (Rich), cuyo elevado consumo por parte de *P. canaliculata* y *P. maculata* ha sido reportado previamente (Estebenet, 1995; Burlakova *et al.*, 2009). En el arroyo Buñirigo, la vegetación estuvo dominada por las especies *Schoenoplectus californicus* y *Polygonum punctatum*. La primera es una planta palustre que no es consumida por los ampuláridos (Cazzaniga y Estebenet, 1984; Burlakova *et al.*, 2009), aunque es utilizada por estos caracoles para depositar sus huevos. Si bien la segunda especie es consumida por *P. canaliculata*, Qiu y Kwong (2009) demostraron que ejemplares alimentados con *Polygonum hydropiper* (L) Delabre crecieron apenas un poco más que los caracoles privados de alimento, sugiriendo que estas plantas tienen bajo valor nutritivo. Sumado a esto, el arroyo Buñirigo presenta otras características desfavorables para el establecimiento de *P. canaliculata*, tales como la pronunciada pendiente del cauce, la profundidad y la velocidad de la corriente (Martín *et al.*, 2001).

Similar a lo discutido previamente para el anfípodo *H. curvispina*, la presencia de depredadores constituye otro factor natural que podría estar influyendo en la abundancia de *P. canaliculata* en los arroyos. Mediante un ensayo, Yusa *et al.* (2006) examinaron el

efecto de la depredación de distintos animales sobre *P. canaliculata* en Japón y determinaron que estos caracoles son consumidos principalmente por invertebrados (larvas de odonatos, coleópteros y hemípteros acuáticos, entre otros), peces y tortugas y, en concordancia con esto, Burlakova *et al.* (2010) hallaron menores abundancias de *P. maculata* en sitios en donde la cantidad de depredadores era mayor. En el área de estudio de la presente investigación, el principal consumidor de *P. canaliculata*, es el gavián caracolero (*Rostrhamus sociabilis*), aunque también se han hallado restos de estos caracoles en el contenido estomacal de tortugas (Alcalde *et al.*, 2010). Asimismo, López van Oosterom *et al.* (2013) hallaron que además de consumir anfípodos, los peces *P. laticeps* y *B. iheringii* también consumían ejemplares de *P. canaliculata*. Como fuese mencionado previamente, estas especies de peces fueron reportadas en los arroyos El Pescado, Zapata y Buñirigo durante el período de estudio de esta tesis por Paracampo (2012). Mientras que en los arroyos El Pescado y Zapata la abundante cobertura de macrófitas flotantes y sumergidas estaría proveyendo refugio a los caracoles, la dominancia de palustres (juncos) en el Buñirigo dejaría más expuestos a los caracoles frente a todos sus depredadores.

Los efectos de la contaminación sobre la abundancia y biomasa de ampuláridos han sido poco estudiados. Watanabe *et al.* (2000) analizaron los efectos de herbicidas de uso frecuente en la agricultura sobre *P. lineata* (Spix 1827) en Brasil, mientras que Kruatrachue *et al.* (2011) documentaron efectos subletales sobre distintos tejidos de *P. canaliculata* causados por sedimentos de un río contaminados con metales pesados. También se han reportado efectos letales y subletales del cobre sobre *P. paludosa* Say 1829 en la Florida de los Estados Unidos (Hoang *et al.*, 2011). Recientemente, Chiu *et al.* (2014) documentaron distintos efectos de agroquímicos sobre la actividad de enzimas del hepatopáncreas de *P. canaliculata* planteando la utilización de este modelo en estudios de toxicidad de estos compuestos. Considerado todas estas posibles respuestas, resulta probable que la menor abundancia de *P. canaliculata* en el arroyo Buñirigo se deba al efecto de la contaminación producto de los usos del suelo en su cuenca y no sólo a las características naturales del arroyo.

Al comparar la distribución de tallas de las cuatro poblaciones puede apreciarse la mayor frecuencia de caracoles de tallas menores en el arroyo Martín. De hecho, la diferencia en el crecimiento de los caracoles criados en el agua del arroyo que en agua

de referencia indicaría que las menores tallas alcanzadas por estos caracoles está relacionada con una limitante ambiental, más que una característica genética de la población. Asimismo, el valor nutritivo de la macrófita más abundante de este arroyo, *H. nymphoides*, podría interferir en el crecimiento de los caracoles, hipótesis que debería ser testeada en futuras investigaciones. Los adultos del arroyo Zapata muestreados en marzo de 2010 mostraron las mayores tallas, lo que se ve favorecido por las elevadas cobertura y diversidad vegetales, que les proveen refugios ante los depredadores, y por una vasta oferta alimentaria. Por otra parte, en el arroyo Buñirigo se registró la menor abundancia de juveniles, lo que podría deberse, no sólo a la escasez de progenitores y baja fecundidad de los mismos, sino también a los efectos de la depredación que ejercen algunos invertebrados y peces sobre neonatos y juveniles de *P. canaliculata* (Carlsson *et al.*, 2004b; Yusa *et al.*, 2006).

El valor medio de fecundidad de *P. canaliculata* obtenido en la presente investigación (264 huevos/puesta) es similar a lo obtenido por otros autores (Martín y Estebenet, 2002; Cowie, 2002), aunque no fue igual en las cuatro poblaciones. Las diferencias observadas en esta variable podrían estar determinadas por distintos factores. En primer lugar, por la talla de las hembras, relacionada directamente a la fecundidad (Estebenet y Cazzaniga, 1992). Esto permitiría explicar los elevados valores de fecundidad registrados en el arroyo Zapata, en el cual los caracoles fueron más grandes, así como los bajos valores registrados en las puestas del arroyo Martín con caracoles más pequeños. Una elevada densidad poblacional también puede afectar a la fecundidad (Tanaka *et al.*, 1999), lo cual también parece contribuir a la baja fecundidad hallada en el arroyo Martín. Por otra parte, tanto la abundancia como el valor nutritivo del alimento afectan a la fecundidad de este caracol (Estoy *et al.*, 2002; Qiu y Kwong, 2009; Tamburi y Martín, 2009). Esto se vería reflejado en los bajos valores de esta variable registrados en los arroyos Martín y Buñirigo, en los cuales la abundancia de macrófitas consumibles por *P. canaliculata* fue menor.

Los valores de fertilidad obtenidos en este trabajo (cerca al 80%) están dentro de los valores normales para esta especie (Joshi, 2007) y son similares a los obtenidos por Estebenet y Cazzaniga (1992) para cohortes criadas en condiciones de laboratorio. Si bien la fecundidad fue menor en los arroyos El Pescado y Buñirigo, una mayor viabilidad de las puestas de esos arroyos podría estar compensando el menor número de huevos en

esas poblaciones. Contrariamente, las puestas del arroyo Zapata compensarían la menor fertilidad de los huevos (es decir, huevos viables) con una mayor fecundidad de las hembras (mayor cantidad de huevos/puesta). La población del arroyo Martín, en cambio, no sólo exhibió una baja fecundidad sino también baja fertilidad, hallándose en estas puestas el mayor porcentaje de huevos no desarrollados, lo cual de acuerdo a Qui y Kwong (2009) podría estar relacionado con el bajo valor alimeticio de las macrófitas de este arroyo.

En general, la curva de crecimiento promedio de *P. canaliculata* obtenida luego de aproximadamente 100 días de exposición coincide con la de Wu *et al.* (2011) para esta misma especie. Sin embargo, el crecimiento no fue igual en todos los tratamientos. Los elevados coeficientes de variación en las tallas de los caracoles del arroyo Zapata al final de la experiencia indicarían que en esta población existe una elevada competencia intraespecífica, en la que el crecimiento individual diferencial de algunos especímenes, aumentaría la competencia por los recursos, de modo que algunos aumentan su tamaño en detrimento de otros. Esta hipótesis se vio respaldada con los resultados obtenidos en la experiencia de supervivencia, en la que la biomasa final (PF) alcanzada por los escasos caracoles sobrevivientes de este arroyo (tanto los expuestos al agua del arroyo como al agua mineral), fue similar a la obtenida en los otros tratamientos con supervivencias cercanas al 80%. Por otra parte, los valores de supervivencia obtenidos luego de 11 semanas de exposición en los otros tratamientos correspondientes a los arroyos Martín, Pescado y Buñirigo, son similares a lo hallado por otros autores en condiciones de cría en el laboratorio entre los 15 y 25 °C (Seuffert y Martín, 2013). Además de la competencia por los recursos, la temperatura, la cantidad y la calidad del alimento son factores que determinan la supervivencia de *P. canaliculata* (Estebenet y Martín, 2002; Tamburi y Martín, 2009; Morrison y Hay, 2010). Dado que estos factores fueron controlados en el laboratorio, se asume que las diferencias observadas en la supervivencia de los caracoles del arroyo Zapata corresponden a diferencias genotípicas de las poblaciones. Dado que no se hallaron diferencias significativas entre los caracoles expuestos al agua del arroyo y agua mineral dentro de cada arroyo, se podría decir que la calidad del agua de los distintos sistemas lóticos no muestra signos de impacto antropogénico suficiente como para alterar la supervivencia de los caracoles.

CONSIDERACIONES FINALES

Las poblaciones de ambas especies mostraron gran variabilidad temporal y espacial. Algunas de las diferencias observadas podrían ser explicadas en función de la variabilidad natural de los cuerpos de agua en los que habitan, aunque no pueden descartarse los posibles efectos de las actividades humanas en las cuencas. Entre las variables naturales que podrían resultar más influyentes para las poblaciones de *H. curvispina* están la presencia de potenciales depredadores y la diversidad y abundancia de macrófitas. Sin embargo, resulta necesario estudiar los rangos de tolerancia de *H. curvispina* a distintas variables ambientales para comprender mejor su relación con las variables físico-químicas del agua.

Entre los potenciales impactos antropogénicos sobre las poblaciones de *H. curvispina* se encuentran la contaminación con agroquímicos (que conducen a pulsos de elevada mortalidad), la contaminación con cadmio (que conduce a la menor abundancia de los neonatos y juveniles), la posible presencia de contaminantes emergentes (que desplaza la proporción de sexos a favor de las hembras) u otros compuestos que estén afectando al crecimiento de la especie y, en consecuencia, a su fecundidad. En base a esto, las poblaciones más afectadas por la contaminación serían las de los arroyos Martín y Buñirigo. Las poblaciones de *P. canaliculata* de los distintos sitios estudiados exhibieron considerables diferencias en los rasgos analizados. Algunas características de los ambientes tales como la temperatura del agua, la profundidad del arroyo, la presencia de depredadores y la abundancia y diversidad vegetal podrían ser las principales causas naturales que controlan a estas poblaciones. No obstante, no puede descartarse el que las actividades humanas desarrolladas en las cuencas también estén operando sobre la estructura y dinámica de estas especies.

La principal importancia de las macrófitas con relación a *P. canaliculata* sería su valor nutritivo, ya que éste tendrá efectos sobre la abundancia, el crecimiento y la fecundidad. Considerando esto, debería estudiarse el valor nutritivo de las especies vegetales halladas en estos arroyos con el fin de evaluar su efecto sobre los rasgos poblacionales de *P. canaliculata* mencionados. Asimismo, debería realizarse un estudio

más exhaustivo para elucidar si la menor abundancia de adultos y juveniles en el arroyo Buñirigo se debe las características naturales del mismo (profundidad, tipo y cobertura de macrófitas y abundancia de depredadores) o al deterioro de la calidad ecológica del arroyo producto de la contaminación de la cuenca causada por los distintos usos del suelo.

Las experiencias de crecimiento y supervivencia permitieron diferenciar a la población del arroyo Zapata respecto a las de los demás arroyos, ya que estos caracoles alcanzan tallas mayores en menor tiempo generando una fuerte competencia intraespecífica por los recursos que lleva a una mayor supervivencia de los individuos de mayor talla en detrimento de los más pequeños. Esta condición genética se ve favorecida en el ambiente natural siempre y cuando persista una elevada disponibilidad de recursos.

Las hipótesis de este capítulo fueron:

- “Los rasgos poblaciones de *H. curvispina* y *P. canaliculata* se ven alterados en respuesta a la calidad ecológica de los ambientes, por lo que se espera que en ambientes perturbados se registren menores valores de densidad, biomasa, fecundidad, fertilidad, crecimiento y supervivencia de estas especies con respecto a los valores registrados en el sitio de referencia”.
- “Existen rasgos poblacionales de *H. curvispina* y *P. canaliculata* que sirven como herramientas complementarias para la determinación de la calidad del agua de los ambientes lóticos pampeanos seleccionados”.

La primera hipótesis se rechaza porque tanto las poblaciones de *H. curvispina* como las de *P. canaliculata* presentes en el arroyo de referencia (El Pescado) no siempre mostraron las características esperadas (mayor abundancia, biomasa, fecundidad, fertilidad, crecimiento y supervivencia). No obstante, las poblaciones de los arroyos Martín y Buñirigo mostraron rasgos posiblemente vinculados a su menor calidad del agua. *P. canaliculata*, por ejemplo, presentó una estructura dominada por tallas más pequeñas, proporción de sexos a favor de las hembras y menores valores de fecundidad y fertilidad en arroyo periurbano Martín. Por otra parte, en el arroyo Buñirigo se encontraron las menores abundancias de ambas especies y *H. curvispina* presentó individuos de menores tallas y menor fecundidad. Por lo tanto,

la segunda hipótesis no se rechaza ya que, el análisis de estos rasgos podría ser de utilidad en estudios de la calidad del agua de los arroyos. No obstante, antes de utilizar estos rasgos como herramienta de monitoreo deben considerarse los siguientes aspectos:

- En general, la abundancia de estos invertebrados está muy vinculada al tipo y abundancia de macrófitas, por lo que se recomienda tener en cuenta tales características al momento de analizar diferencias interpoblacionales. Asimismo, es importante llevar a cabo estudios a escala de parche, ya que distintos tipos de vegetación se relacionan con distintos valores de abundancia.
- Los rasgos reproductivos (proporción de machos y hembras, fecundidad y fertilidad) de estas especies resultaron los más informativos acerca de la calidad ecológica de los arroyos, pero es importante tener en cuenta que tanto los depredadores como la calidad del alimento pueden afectar los valores de esta variable.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

⊙ En este capítulo se analizaron rasgos poblacionales de *H. curvispina* y *P. canaliculata* en relación a la calidad ecológica de los arroyos estudiados. Los resultados indican que las poblaciones de ambas especies exhiben diferencias temporales y espaciales en muchos de esos rasgos. Si bien muchas de esas diferencias podrían deberse a las características del ambiente en el que habitan, algunos rasgos sugieren el impacto de los usos del suelo sobre estas poblaciones. La gran plasticidad genotípica y fenotípica de *P. canaliculata* la convierten en una especie más tolerante que *H. curvispina*. No obstante, se plantea la necesidad de ampliar el conocimiento de los rangos de tolerancia de ambas especies, tanto a las condiciones físico-químicas del agua como a distintos contaminantes.

⊙ Dado que la calidad del alimento tiene influencia sobre muchos de los rasgos poblacionales de *P. canaliculata*, resulta necesario diferenciar en futuros ensayos si las diferencias interpoblacionales de observadas son consecuencia del valor nutritivo de las macrófitas o del impacto del empobrecimiento de la calidad ecológica.

⊙ Si bien a partir de los resultados obtenidos en este estudio no puede optarse con plena certeza por alguno de los rasgos poblacionales de *H. curvispina* y *P. canaliculata* como herramienta de monitoreo de los arroyos pampeanos, de esta investigación surgen muchos interrogantes cuyas respuestas podrían contribuir a alcanzar ese objetivo.

A.C. Ferreira
Tesis Doctoral

2015



**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN
BIOQUÍMICA DE HUEVOS Y ADULTOS DE
POMACEA CANALICULATA PROVENIENTES
DE ARROYOS VINCULADOS A DISTINTOS
USOS DEL SUELO**

Capítulo 4: ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE HUEVOS Y ADULTOS DE *POMACEA CANALICULATA* PROVENIENTES DE ARROYOS VINCULADOS A DISTINTOS USOS DEL SUELO.

INTRODUCCIÓN

Los macroinvertebrados de agua dulce suelen encontrarse expuestos a variaciones regulares en la temperatura, conductividad, disponibilidad de oxígeno y de alimento, entre otros. Tanto los cambios en las condiciones naturales como la exposición a determinados xenobióticos pueden conducir a un desbalance en la homeostasis de los organismos, lo cual implica cambios en el metabolismo intermedio. El análisis de la composición bioquímica de los organismos permite inferir su estado fisiológico dado que las variaciones en los lípidos, proteínas y carbohidratos pueden reflejar la exposición a distintos factores de estrés (Calow y Sibly, 1990; Calow, 1991). Duncan *et al.* (1987), por ejemplo, estudiaron las diferencias en el contenido de lípidos del caracol *Biomphalaria glabrata* Say 1818 bajo condiciones de alimentación normal y ayuno total, encontrando que los animales privados de alimento presentaban cantidades de lípidos significativamente menores que los alimentados. Asimismo, los anfípodos *Hyaella curvispina* y *H. pleoacuta* González, Bond-Buckup y Araujo, 2006 manifestaron una disminución en el contenido de lípidos, proteínas e hidratos de carbono en respuesta al pesticida Carbofuran (Dutra *et al.*, 2008), demostrando que alteraciones en la composición bioquímica podrían resultar indicadoras de contaminación. Sin embargo, antes de adjudicar los cambios observados a los efectos de la contaminación, es necesario considerar ciertos factores como el sexo de los individuos analizados, su período de reproducción y las fluctuaciones temporales en los parámetros fisicoquímicos del ambiente (Vidal *et al.*, 2002).

En las últimas décadas, se ha detectado en diversos cuerpos de agua un aumento en la concentración de disruptores endócrinos (EDs), compuestos de variada naturaleza

química que incluyen productos farmacéuticos de uso común como anticonceptivos, antiinflamatorios no esteroideos, antidepresivos, etc. (principalmente en zonas urbanas), agroquímicos (en zonas rurales) y pinturas antifouling (en zonas portuarias) (Depledge y Billingham, 1999; Frye *et al.*, 2011). Estos compuestos mimetizan hormonas e interfieren en los mecanismos de transducción del sistema endócrino, alterando principalmente el metabolismo y la fisiología reproductiva de los organismos. Uno de los efectos que manifiestan algunos gasterópodos frente a la exposición a determinados contaminantes es el aumento en la producción de vitelogeninas, precursoras de las proteínas vitelinas que forman parte de la reserva nutricional de los embriones en desarrollo (Jobling *et al.*, 2003). La determinación del contenido de proteínas totales en huevos y glándula de albumen constituye una herramienta útil y sencilla para detectar alteraciones en la producción de vitelogeninas.

Pomacea canaliculata deposita sus huevos en forma de puestas conspicuas de color rosa sobre la vegetación y otros sustratos, por encima del nivel del agua. El hecho de que un caracol acuático deposite puestas aéreas resulta un rasgo llamativo, que ha dado lugar a numerosas investigaciones respecto a las propiedades físicas y químicas de sus proteínas perivitelinas (proteínas vitelinas que rodean al embrión; Dreon *et al.*, 2004; Dreon *et al.*, 2008; Heras *et al.*, 2008; Frassa *et al.*, 2010). Más allá de estos estudios, el conocimiento acerca de la composición bioquímica de *P. canaliculata* son escasos. Heras *et al.* (1998) realizaron un estudio detallado de la dinámica de proteínas, carbohidratos y lípidos durante el desarrollo embrionario en huevos hasta su eclosión. Dreon *et al.* (2006) describieron la composición bioquímica de las proteínas perivitelinas (principal componente de los huevos en desarrollo) y su sitio de producción. En adultos, Matsukura *et al.* (2008) estudiaron los cambios que ocurren en las reservas energéticas (lípidos, carbohidratos y aminoácidos) de *P. canaliculata* en respuesta a la aclimatación al frío, proceso que les permite a estos caracoles sobrevivir a bajas temperaturas. Por otra parte, Chiu *et al.* (2014) analizaron el efecto de pesticidas sobre la actividad de enzimas del metabolismo de aminoácidos en la glándula digestiva de *P. canaliculata*.

En este contexto, el estudio de la composición bioquímica (lípidos, carbohidratos y proteínas) en *P. canaliculata* es de gran utilidad para la evaluación del efecto sobre el metabolismo de múltiples factores de stress, tanto naturales (reducción de la disponibilidad de alimento, alteración de los parámetros fisicoquímicos del agua, etc.)

como antropogénicos (contaminación). En especial, resulta de particular interés el análisis de la composición bioquímica de la glándula digestiva, dado su rol en la digestión y el metabolismo general, y en los huevos y la glándula de albumen, debido a su relación con el proceso reproductivo.

Hipótesis:

La composición bioquímica (lípidos, carbohidratos y proteínas) de huevos y adultos de *P. canaliculata* permite inferir efectos de la contaminación a la que se someten los caracoles.

Objetivos

- Determinar la composición bioquímica de la glándula digestiva, glándula de albumen y huevos de *P. canaliculata* pertenecientes a poblaciones de arroyos con distinto uso del suelo en su cuenca;
- Evaluar si existen diferencias en los parámetros bioquímicos entre las distintas poblaciones y analizarlas en relación a la calidad del agua de los arroyos;
- Evaluar la posibilidad de obtener nuevos descriptores de la calidad del agua a partir de rasgos bioquímicos de *P. canaliculata* comparando con los resultados obtenidos en los capítulos anteriores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de las muestras

Se realizó una colecta de parejas en cópula de *P. canaliculata* en diciembre de 2012 en el sitio 1 del arroyo Martín y los arroyos El Pescado, Zapata y Buñirigo, todos ellos descriptos en detalle en el capítulo 2. Estos caracoles fueron trasladados al laboratorio en donde se colocaron en recipientes con agua del arroyo (cada grupo de caracoles con el agua correspondiente a su arroyo de procedencia) y mantenidos sin alimento por 5 días. Transcurrido ese tiempo, se procedió a la disección de hembras adultas (3 por arroyo) de las cuales se extrajo la glándula de albumen (“GA”) y el hepatopáncreas o glándula

digestiva (“GD”). Las puestas de huevos frescas depositadas en las paredes de los recipientes durante esos 5 días, fueron extraídas cuidadosamente para el posterior análisis (3 puestas por arroyo). Mediante observación bajo microscopio de algunos huevos de cada puesta se corroboró que éstos estuvieran en el estadio I de desarrollo (Heras *et al.*, 1998). Tanto GA, como GD y las muestras de huevos (“H”) -compartimentos a los que en adelante se hará referencia como “tejidos”- fueron almacenados en un ultrafreezer (-70 °C) para garantizar una mejor conservación del material.

Determinación de lípidos totales

Se realizó la extracción de lípidos de las muestras de cada sitio de muestreo (n=3 para cada tejido), homogeneizando los tejidos en una mezcla cloroformo y metanol (cada 0,5 g de tejido, 10 ml de cloroformo:metanol (2:1, v/v; Folch *et al.*, 1957). Con el fin de eliminar los restos de tejidos, los homogenatos fueron filtrados en filtros de papel Whatman previamente lavados con la mezcla de solventes. Al extracto filtrado se le agregó una solución de 0,9% NaCl (v/v; en un volumen equivalente al 20% del extracto) y se lo dejó reposar 24 horas a 4 °C para separar las fases lipídica y acuosa. Pasado ese tiempo, se procedió a extraer cuidadosamente la fase acuosa mediante succión suave con una bomba. La fase orgánica inferior se evaporó completamente con N₂ y el contenido total de lípidos se determinó gravimétricamente mediante repetidas pesadas en una balanza analítica hasta obtener un peso constante.

Determinación de proteínas totales

Las proteínas totales se midieron mediante el método de Lowry *et al.* (1951), basado en la combinación de las uniones peptídicas con Cu⁺² en condiciones alcalinas y la ulterior reacción con el reactivo de Folin, lo cual genera un derivado azulado que se cuantifica espectrofotométricamente.

Para llevar a cabo las determinaciones se homogeneizaron las muestras (alrededor de 0,5 g; n = 3 para cada tejido) en un buffer Tris-HCl 0,02 M, pH = 7,5 manteniendo una relación muestra:buffer de 1:3. El homogenato se centrifugó a 10000 g para obtener una fracción citosólica que fue almacenada a -70 °C. Para realizar las mediciones se prepararon

diluciones de estas fracciones citosólicas (1/40 y 1/80) y se preparó una curva a partir de un estándar de albúmina (1 mg l^{-1}) que abarca de un rango de concentraciones desde $0,025 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{l}$ a $0,225 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{l}$. La absorbancia fue determinada a 750 nm en un espectrofotómetro UV visible.

Determinación de carbohidratos totales

La determinación del contenido de carbohidratos totales se realizó mediante el método de Fenol-Sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). En esta reacción, en presencia de ácido sulfúrico los carbohidratos forman furfurales que reaccionan con moléculas orgánicas como el fenol originando compuestos coloreados.

Se realizó una curva de calibración empleando soluciones de glucosa de distintas concentraciones ($15,6 \text{ ng}/\mu\text{l}$, $31,25 \text{ ng}/\mu\text{l}$, $62,5 \text{ ng}/\mu\text{l}$ y $125 \text{ ng}/\mu\text{l}$). Las determinaciones se realizaron por triplicado, midiendo la absorbancia en un espectrofotómetro UV visible a 485 nm .

Análisis estadístico de los datos

Las diferencias en el contenido de lípidos, proteínas y carbohidratos entre los caracoles de los distintos arroyos y entre tejidos fueron analizadas mediante análisis de varianza (ANOVA) de 2 vías ortogonal ($\alpha: 0,05$), con los factores “arroyo” (4 niveles: M°, P°, Z° y B°) y “tejido” (3 niveles fijos: H, GA y GD) utilizando el software WinGmav5 (cuyo uso fue autorizado personalmente por el autor del programa). En caso de hallarse interacciones significativas, los factores principales se analizaron por separado mediante ANOVA a una vía con otro software de procesamiento de datos estadísticos. Las diferencias significativas se analizaron mediante el método *a posteriori* de comparaciones múltiples Student-Neuman-Keuls (SNK).

RESULTADOS

Lípidos

El contenido promedio de lípidos medido en cada tejido en los caracoles de los distintos arroyos se muestra en la figura 4.1. Los huevos fueron el tejido con menor contenido de lípidos ($1,8 \pm 0,9$ mg/g tejido), mientras que GA y GD tuvieron valores mucho mayores ($14,3 \pm 3,7$ y $14,1 \pm 2,8$ mg/g tej). Las diferencias entre estos últimos no fue significativa ($p: 0,86$), pero si hubieron diferencias entre estos dos y los huevos ($p < 0,001$).

En cuanto a las diferencias entre los caracoles de distintas poblaciones, se halló que los caracoles del arroyo Martín tuvieron el menor contenido de lípidos en todos los tejidos (Fig. 4.1). En las hembras del arroyo El Pescado, en cambio, se encontró la mayor cantidad de lípidos en huevos y GA ($2,7 \pm 0,5$ y $17,2 \pm 4,9$ mg/g tej, respectivamente), aunque el contenido de lípidos en GD ($11,4 \pm 1,8$ mg/g tej) no fue significativamente diferente al determinado en la GA de las hembras del arroyo Martín ($12,6 \pm 1,4$ mg/g tej; $p = 0,45$). Los caracoles de los arroyos Zapata y Buñirigo presentaron un contenido de lípidos similar en todos los tejidos analizados.

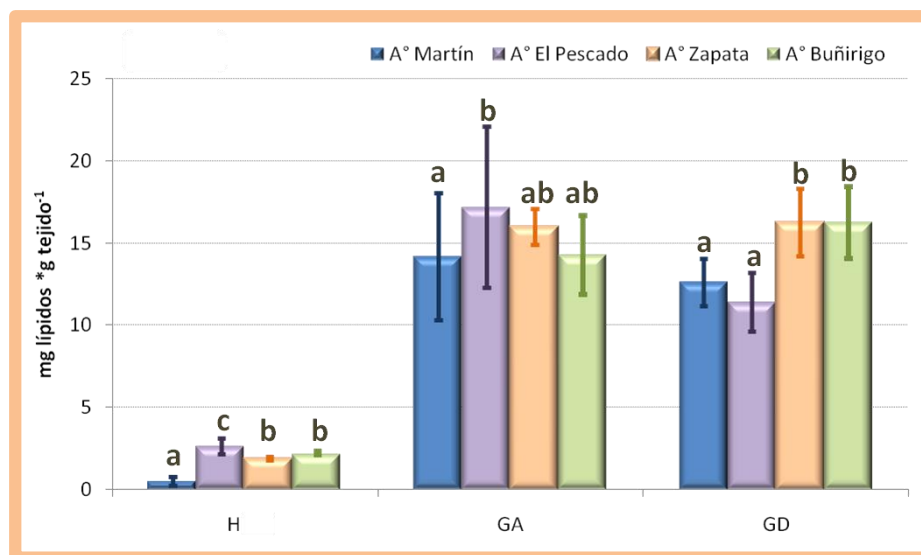


Fig. 4.1. Contenido lipídico promedio (\pm desvío estándar) en los distintos tejidos por arroyo. **H:** huevos; **GA:** glándula de albumen; **GD:** glándula digestiva. Las letras sobre las barras indican los resultados del SNK (comparaciones dentro de cada tejido)

Proteínas

El contenido de proteínas totales no evidenció diferencias significativas entre los distintos tejidos estudiados ($p = 0,10$). Los valores promedio medidos en cada tejido por arroyo se muestran en la figura 4.2. El contenido promedio de proteínas en huevos fue de 21 g prot/g tej y no se hallaron diferencias significativas entre arroyos. Pese a que en las hembras de los arroyos Pescado y Buñirigo se registraron los mayores valores de proteínas en GA (promedio de 38 ± 10 g prot/g tej), las diferencias con los valores medidos en Martín y Zapata (21 ± 6 g prot/g tej) no fueron significativas. En GD, en cambio, si se hallaron diferencias según el arroyo de procedencia, siendo las hembras del arroyo Martín las que presentaron el menor contenido proteico promedio (12 ± 3 g prot/g tej), intermedio las del Zapata (27 ± 10 g prot/g tej) y mayor las de los arroyos El Pescado y Buñirigo los (44 ± 11 y 36 ± 5 g prot/g tej, respectivamente).

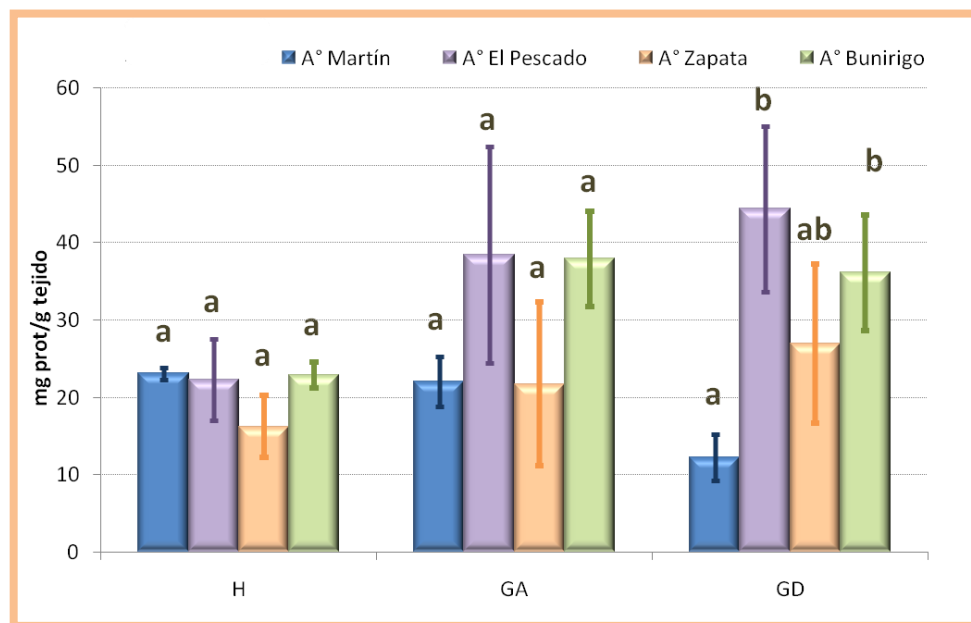


Fig. 4.2. Contenido proteico promedio (\pm desvío estándar) en los distintos tejidos por arroyo. **H:** huevos; **GA:** glándula de albumen; **GD:** glándula digestiva. Las letras sobre las barras indican los resultados del SNK.

Carbohidratos

El contenido promedio de carbohidratos (expresando en mg de azúcares por g de tejido) medido en cada tejido proveniente de distintos arroyos se muestra en la figura 4.3. El mayor contenido de carbohidratos totales se midió en los huevos del caracol (13 ± 5 mg /g), mientras que GA y GD presentaron casi la mitad de ese valor (alrededor de 7 ± 3 mg /g). No se hallaron diferencias significativas en el contenido de azúcares totales entre estos dos tejidos ($p: 0,82$), pero si entre ellos y los huevos ($p < 0,005$).

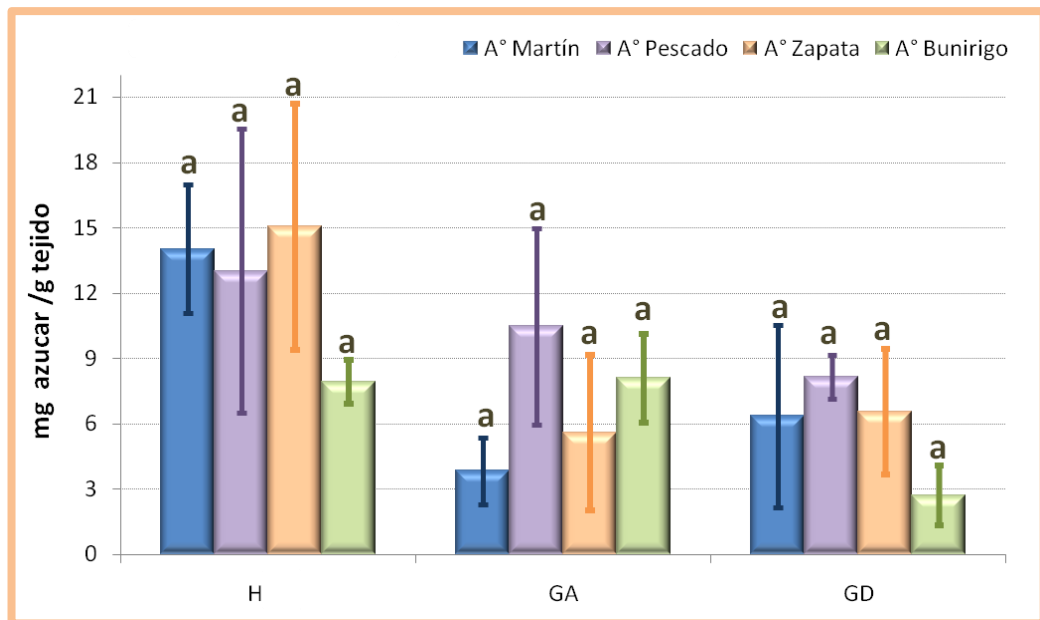


Fig. 4.3 Contenido promedio de azúcares (\pm desvío estándar) en los distintos tejidos por arroyo. H: huevos; GA: glándula de albumen; GD: glándula digestiva. Las letras sobre las barras indican los resultados del SNK.

Análisis porcentual de la composición bioquímica

El porcentaje promedio relativo de lípidos, proteínas, hidratos de carbono y otros componentes (probablemente agua y cenizas) de los distintos tejidos analizados se muestra en la figura 4.4. Se observa que, en todos casos, los tres tipos de compuestos analizados constituyen sólo un pequeño porcentaje del total de la masa analizada (entre 4 y 6%). En la parte superior de la figura 4.4 se muestran los promedios obtenidos a partir de los valores relativos de los distintos arroyos.

En los tres tejidos analizados las proteínas alcanzaron mayor abundancia relativa. La composición general de los huevos respecto a los otros tejidos exhibió el mayor porcentaje de carbohidratos y el menor de lípidos, mientras que en GA y GD, las proporciones de las tres sustancias fueron similares.

En la composición bioquímica de los huevos se destaca el bajo contenido de lípidos en los provenientes del arroyo Martín y la mayor abundancia de carbohidratos en los del arroyo Zapata. Las proporciones de las distintas sustancias en GA, en cambio, fueron bastante similares entre los caracoles de los distintos arroyos, mostrando sólo un mayor contenido relativo de lípidos en los caracoles del arroyo Zapata. En la GD se observaron algunas diferencias entre los caracoles de los distintos arroyos: en las muestras del arroyo Martín esta glándula presentó la mayor proporción de lípidos, mientras que la menor se midió en las de El Pescado. Las proporciones medidas en los caracoles del arroyo Zapata fueron las más similares a la composición promedio. La GD de los caracoles del arroyo Buñirigo exhibió el menor porcentaje de carbohidratos.

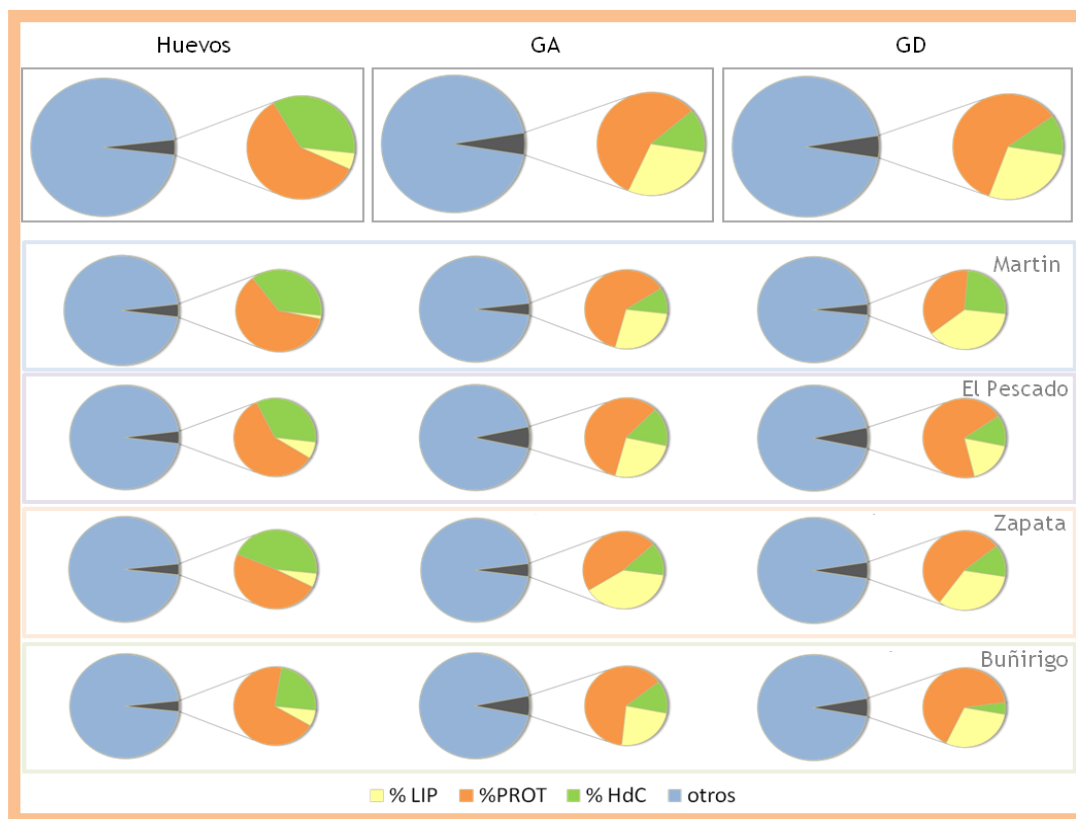


Fig. 4.4. Proporciones de lípidos (LIP), proteínas (PROT), hidratos de carbono (HdC) y otros componentes constituyentes de los distintos tejidos analizados. Los gráficos superiores con encuadre gris representan las proporciones promedio calculadas a partir de los valores registrados en los arroyos (recuadros inferiores).

DISCUSIÓN

Se analizaron los contenidos totales de lípidos, proteínas y carbohidratos en huevos, glándula de albumen y glándula digestiva de *P. canaliculata* provenientes de cuerpos de agua lóticos pampeanos vinculados a distintos usos del suelo. En conjunto, los lípidos, carbohidratos y proteínas representan un pequeño porcentaje de los tejidos analizados ($4 \pm 2\%$) ya que, al menos en adultos, el agua constituye más del 80% del peso fresco total del animal (Matsukura *et al.*, 2008).

En huevos, las proteínas y carbohidratos fueron componentes mayoritarios ($2,1 \pm 0,4\%$ y $1,2 \pm 0,5\%$, respectivamente; Fig. 4.4) mientras que los lípidos representaron un pequeño porcentaje ($0,2 \pm 0,1\%$). Esto se debe en parte a las características de las proteínas que constituyen la mayor parte del fluido perivitelino, las ovorrubinas y las perivitelinas PV2 y PV3 que si bien se asocian a diversos lípidos (esteroles, fosfolípidos, ácidos grasos, triacilglicerol y carotenoides) se encuentran altamente glicosiladas (principalmente con manosa y galactosa) (Heras y Pollero, 2002; Dreon *et al.*, 2006; Ituarte *et al.*, 2010). Pero a diferencia de lo hallado por Heras *et al.* (1998), se observó que en todos los arroyos el contenido de proteínas en huevos fue mayor que el de hidratos de carbono. Como fuera mencionado previamente, algunos contaminantes pueden aumentar la síntesis de proteínas, particularmente de las vitelogeninas. En efecto, Chiu *et al.* (2014), asociaron la presencia de proteínas tipo vitelogeninas en hemolinfa de machos de *P. canaliculata* con los efectos de disrupción endócrina provocada por la contaminación con agroquímicos. Sin embargo, la utilidad de estas mediciones como verdaderos indicadores de disrupción endócrina ha sido cuestionada por Scott (2013). Además, las principales vitelinas presentes en huevos de *P. canaliculata* (PV2 y PV3) no se encuentran en la hemolinfa, sino que son sintetizadas *de novo* en las células secretoras de la glándula de albumen (Dreon *et al.*, 2002; Catalán *et al.*, 2006; Dreon *et al.*, 2006). Por lo tanto, si bien en este trabajo el contenido de proteínas medido en huevos es mayor a lo esperado según Heras *et al.* (1998), esto no es suficiente para considerar que la mayor proporción de proteínas en huevos sea consecuencia de la exposición de estos caracoles a esos contaminantes.

La composición general de la glándula de albumen fue similar a la reportada por Stickle (1975) para el caracol *Nucella (ex Thais) lamellosa* Gmelin 1971. Su elevado

contenido de proteínas se debe a la gran producción de fluido perivitelino rico en proteínas (PV2 y ovorrubinas, principalmente), el cual disminuye durante el período post-reproductivo (Catalán *et al.*, 2006).

Si bien no se cuenta con antecedentes respecto a la composición bioquímica general de la glándula digestiva de *P. canaliculata*, los resultados obtenidos en la presente investigación (proteínas > lípidos > carbohidratos) coinciden con lo medido en la glándula digestiva de *N. lamellosa* por Lambert y Dehnel (1974).

Los bajos contenidos de lípidos, proteínas y carbohidratos en la GA y GD de los tejidos de los caracoles provenientes del arroyo Martín podría guardar alguna relación con las hipótesis planteadas en el capítulo 3 respecto a la mala calidad alimenticia de *H. nymphoides*, o la posible presencia de algún compuesto en ese arroyo que estarían afectando el estado nutricional y crecimiento de los caracoles de esa población.

La composición bioquímica de huevos, GA y GD fueron, en general, muy similares entre los caracoles de los arroyos El Pescado y Buñirigo. No obstante, la menor concentración de hidratos de carbono en caracoles del arroyo Buñirigo podría estar causada por el estrés ambiental al que están sometidos, ya que la disminución de reservas de glucógeno en presencia de algunos xenobióticos se ha demostrado en *Biomphalaria glabrata* y en anfípodos del género *Hyaella* Smith 1974 (Ansaldi *et al.*, 2006; Dutra *et al.*, 2008). Los tejidos de caracoles provenientes del arroyo Zapata, presentaron contenidos intermedios de lípidos, proteínas e hidratos de carbono. Como se observara en los resultados de las experiencias de crecimiento y supervivencia analizados en el capítulo 3, estos caracoles alcanzan mayores tallas en menos tiempo, lo que implicaría una movilización de aminoácidos desde la GD para formar las proteínas necesarias para el crecimiento y en consecuencia permitiría explicar los bajos valores de proteínas registrados en los caracoles de ese arroyo (27 ± 10 mg prot/g tej) respecto a los caracoles de El Pescado y Buñirigo (36 ± 8 y 44 ± 10 mg prot/g tej, respectivamente). Además, la elevada concentración de lípidos en esa glándula también sugiere que estos caracoles se encuentran en buen estado nutricional, llegando incluso a almacenar reservas.

Ni el contenido de proteínas ni el de hidratos de carbono medidos en huevos y glándula de albumen arrojaron diferencias significativas entre los caracoles de los distintos arroyos. El análisis de lípidos, en cambio, si permitió observar algunas diferencias, aunque sin una tendencia muy marcada. Al momento de analizar la

composición bioquímica para comparar distintas poblaciones, es necesario tener en cuenta que el contenido de lípidos, proteínas y carbohidratos en gasterópodos puede variar según la estación del año, la inducción de la hibernación, el sexo, la condición alimenticia y la presencia de ciertos contaminantes (Belisle y Stickle, 1978; Duncan *et al.*, 1987; Matsukura *et al.*, 2008; Salman y Nasar, 2013; Abrol *et al.*, 2014). Dado que los caracoles analizados en esta investigación se encontraban fuera del estado de hibernación, todas las muestras fueron tomadas en el mismo momento (fines de primavera) y todos los ejemplares analizados fueron hembras en estado reproductivo, las tres primeras variables no estarían involucradas en las diferencias interpoblacionales observadas. Sin embargo, las diferencias en el contenido de lípidos y proteínas detectadas principalmente en la glándula digestiva podrían estar indicando distintas condiciones alimenticias o efectos subletales a algún tipo de contaminación. Pero para poder probar estas hipótesis debería hacerse un estudio más detallado considerando, por ejemplo, las clases y metabolismo de lípidos (Lavariás *et al.*, 2006; Lyssimachou *et al.*, 2009), la expresión de enzimas de estrés metabólico en glándula digestiva (Chiu *et al.*, 2014) y los niveles de glucógeno (Ansaldi *et al.*, 2006), entre otros.

CONCLUSIONES

- ⊙ Las poblaciones de *P. canaliculata* de los distintos arroyos evidencian diferencias en la composición bioquímica, principalmente en la glándula digestiva. No obstante, tales diferencias no permiten establecer una relación directa con la calidad ecológica de los arroyos.
- ⊙ Los bajos contenidos de lípidos, proteínas e hidratos de carbono de los tejidos analizados en caracoles del arroyo Martín, sustentan la hipótesis de que las pequeñas tallas y menor fecundidad y fertilidad de los mismos sean consecuencia de su pobre estado nutricional.
- ⊙ No se hallaron diferencias significativas en el contenido de proteínas en huevos y glándula de albumen entre las poblaciones, por lo que a partir de estos resultados, no se puede inferir la presencia de contaminantes en el ambiente que afecten a los caracoles. Los contenidos de lípidos y proteínas exhibieron mayores diferencias en glándula digestiva que en otros tejidos analizados. El estudio detallado del metabolismo

en este órgano, con relación a la composición lipídica y a las reservas de glucógeno, por ejemplo, permitiría hallar biomarcadores de estrés ambiental más específicos.

A.C. Ferreira
Tesis Doctoral

2015



**EVALUACIÓN DE LA UTILIZACIÓN DE
POMACEA CANALICULATA PARA LA
MONITOREO DE LA CALIDAD DEL AGUA
MEDIANTE ENSAYOS DE SUPERVIVENCIA
IN SITU EN ARROYOS PAMPEANOS**

Capítulo 5: EVALUACIÓN DE LA UTILIZACIÓN DE *POMACEA CANALICULATA* PARA EL MONITOREO DE LA CALIDAD DEL AGUA MEDIANTE ENSAYOS DE SUPERVIVENCIA *IN SITU* EN ARROYOS PAMPEANOS

INTRODUCCIÓN

Debido a su conocida sensibilidad, muchas especies de macroinvertebrados acuáticos son utilizadas como herramientas de monitoreo en estudios de calidad del agua. En algunos casos se analiza la respuesta a un tipo de contaminación específica, por ejemplo, las respuestas del caracol *Potamopyrgus antipodarum* Gray 1843 frente a la exposición a descargas cloacales para ver efectos de disrupción endócrina (Gust *et al.*, 2014). En otros casos, una o más especies son expuestas a distintas calidades del agua sin discriminar cuál o cuáles son los factores que afectan a los rasgos medidos. Un ejemplo de esto último es el estudio de los efectos letales y subletales del anfípodo *Gammarus pulex* en sitios con distintos impactos de origen antropogénico (Crane, 1991). Pese a las limitaciones que presentan, los ensayos de exposición *in situ* constituyen una herramienta útil en la evaluación de la calidad del agua ya que los organismos son expuestos a una batería de factores físico-químicos que representa un escenario más realista de las condiciones ambientales que enfrentan los organismos y además son generalmente de corta duración y económicos, lo que los convierte en herramientas de monitoreo sensibles y accesible (Ellis, 2000; Crane *et al.*, 2007; Fig. 5.1)

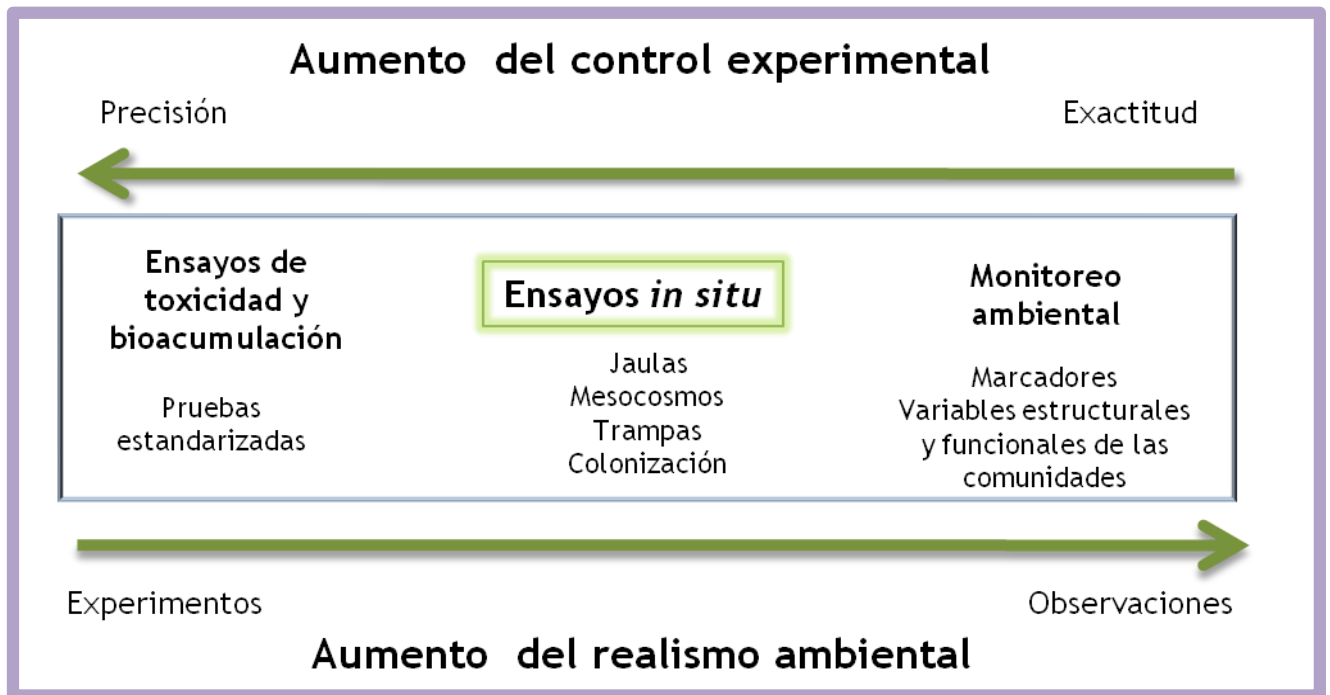


Fig. 5.1. Los ensayos *in situ* establecen un vínculo entre los distintos enfoques que enfatizan ya sea la precisión experimental (ensayos de laboratorio) o el realismo ambiental (Monitoreo). Adaptado de Crane *et al.*, 2007.

Este tipo de ensayos ha sido utilizado con éxito en el estudio de la calidad del agua de cuerpos lóticos pampeanos. Graça *et al.* (2002), por ejemplo, evaluaron la supervivencia y crecimiento de los crustáceos *Hylella curvispina* (Crustacea: Amphipoda) y *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Decapoda) expuestos en arroyos con distinto grado de contaminación, y sus resultados fueron consistentes con la determinación del estado de la calidad del agua a partir de otros índices bióticos. Por otra parte, Jergentz *et al.* (2004) estudiaron *in situ* los efectos del ingreso de agua de escorrentía vinculada a cultivos de soja sobre la supervivencia de *H. curvispina* en dos arroyos pampeanos y sus resultados indicaron alteraciones en dinámica poblacional de esta especie (menor densidad y aumento en la deriva).

Los moluscos son uno de los grupos más utilizados en ensayos de exposición *in situ*. Si bien los bivalvos filtradores han sido más estudiados en este aspecto, los gasterópodos también han cobrado relevancia por sus respuestas frente a determinados tipos de contaminación. El caracol *Potamopyrgus antypodarum*, por ejemplo, ha sido propuesto como especie modelo para estudios de disrupción endócrina en Europa (Duft *et al.*, 2007). Entre los ampuláridos, las especies *Pomacea lineata* y *P. paludosa* han sido utilizadas en

ensayos (microcosmos) para la evaluación de los efectos de sedimentos contaminados con productos derivados de la producción agrícola, citrícola e industrial en Brasil y Estados Unidos (Lima Melo *et al.*, 2000; Hoang *et al.*, 2011), pero al presente no existirían antecedentes de exposiciones *in situ* con *P. canaliculata*.

Los primeros estadios del ciclo de vida suelen ser los más vulnerables para la mayoría de las especies, por lo que la supervivencia en esas etapas es crucial para el crecimiento y mantenimiento de las poblaciones (Gosselin y Quian, 1997). La sensibilidad a contaminantes que evidencian los organismos más jóvenes los convierte en herramientas útiles para ensayos de toxicidad. García *et al.* (2010), por ejemplo, demostraron que los juveniles del anfípodo *H. curvispina* resultan más apropiados que los adultos en la evaluación de la toxicidad del cadmio y, asimismo, Watanabe *et al.* (2000) pusieron de manifiesto la elevada sensibilidad de neonatos de *P. lineata* Spix 1827 a herbicidas de uso frecuente.

La importancia de *P. canaliculata* se ha explorado desde distintas perspectivas a lo largo de esta tesis. Entre los aspectos bioecológicos que resultan relevantes para la presente investigación se destacan:

- Su amplia representatividad en abundancia y biomasa en la región Pampeana, lo que implica que los resultados podrían ser útiles para la evaluación de la calidad del agua de una amplia extensión del territorio nacional e incluso países limítrofes y en los países en donde es invasora;
- El vasto conocimiento de la biología, ecología, comportamiento, histología, inmunología, bioquímica, y otros aspectos de esta especie, permite explicar las posibles respuestas observadas;
- La posibilidad de obtener abundantes neonatos a partir de las grandes y conspicuas masas de huevos depositadas sobre diversas superficies tanto en los ambientes naturales como bajo condiciones de cría en el laboratorio (Fig. 5.2 a y b);
- Neonatos con tamaño tal que permiten ser observados a ojo desnudo y con restos de vitelo en el tubo digestivo suficiente para sobrevivir los primeros días de vida (Heras *et al.*, 1998; Koch *et al.*, 2009; Fig. 5.2 b y c);

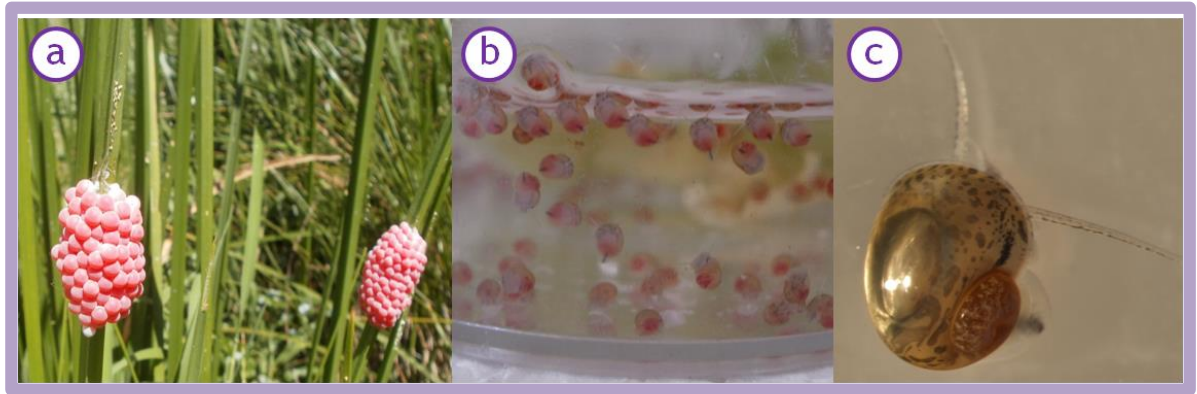


Fig. 5.2.a) Masas de huevos depositadas sobre la vegetación; b) Numerosos neonatos nacidos de una misma puesta; c) neonato con restos de vitelo en tubo digestivo.

En la presente investigación se realizó un ensayo de exposición *in situ* con neonatos de *P. canaliculata* en tres arroyos periurbanos con distinto grado de impacto antropogénico y un control en el laboratorio. La información obtenida resulta de gran relevancia por ser la primera vez que se utiliza esta especie en este tipo de experiencias y porque podría convertirse en una efectiva herramienta de monitoreo de la calidad del agua de arroyos pampeanos.

⊙ **Hipótesis:**

- Los neonatos de *P. canaliculata* son sensibles a la calidad del agua, y su mortalidad aumenta en relación directa al impacto antropogénico del cuerpo de agua.
- La exposición *in situ* de neonatos de *P. canaliculata* constituye una herramienta de monitoreo útil en la evaluación de la calidad del agua de sistemas lóticos pampeanos.

⊙ **Objetivos**

- Estudiar la sensibilidad de los neonatos de *P. canaliculata* frente a su exposición a distintas calidades de agua;
- Evaluar la mortalidad de estos organismos como parámetro en estudios de monitoreo de calidad de agua de sistemas lóticos de llanura;
- Desarrollar una metodología a partir de ensayos *in situ* con neonatos de *P. canaliculata* como herramienta para la evaluación de la calidad del agua y monitoreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Se seleccionaron 3 arroyos periurbanos tributarios del Río de la Plata situados en las inmediaciones de la ciudad de La Plata: arroyos El Gato, Rodríguez y Martín. Los tres arroyos están sometidos a distintos tipos de impacto antropogénico. En la figura 5.3 se muestra la ubicación de estos arroyos así como los principales usos del suelo en su cuenca. La experiencia se llevó a cabo paralelamente en el laboratorio a modo de control.

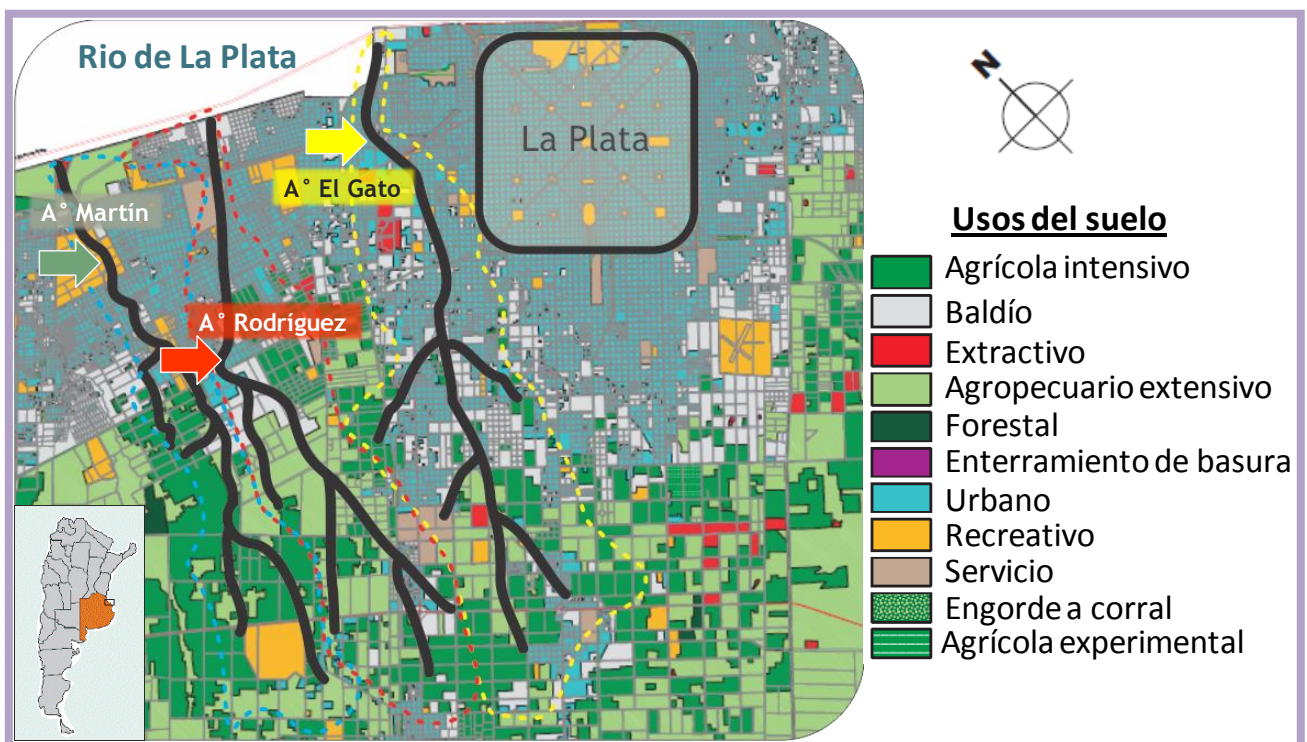


Fig. 5.3. Cuencas de los arroyos (A°) Martín, Rodríguez y El Gato y los principales usos del suelo en su cuenca según Hurtado *et al.* (2006). Las flechas indican los puntos en donde fue realizada la experiencia.

Arroyo Martín

Las características generales de la cuenca del Arroyo Martín fueron descriptas previamente (capítulo 2); sin embargo, para esta experiencia se seleccionó un tramo diferente de ese arroyo situado dentro del Parque Ecológico de La Plata. Este parque es un predio municipal de 45 hectáreas que constituye un área de conservación para la

biodiversidad ($34^{\circ}51'57''$ S $58^{\circ}04'6''$ O; Fig. 5.4 a). En su curso por este parque, el arroyo recibe sólo los efluentes del establecimiento administrativo, los cuales, atraviesan un proceso de tratamiento biológico que mejora la calidad del agua (Mariñelarena, 2006) previamente a ser volcados en el curso principal. El flujo de este arroyo es en general lento no superando los 0,015 m/s debido a la escasa pendiente del terreno y al abundante desarrollo de la vegetación acuática sumergida y emergente, constituida principalmente por *Schoenoplectus californicus* (juncos) y manchones de *Hydrocleys nymphoides* y *Egeria densa* (Cortelezzi, 2010; Fig. 5.4 b). Si bien el lecho es de tosca, la escasa velocidad del agua favorece la deposición de un grueso estrato de sedimentos finos limo arcillosos con alto contenido de detritos orgánicos. Durante el período en el que se realizó esta experiencia la profundidad no superó los 50 cm y el ancho mojado fue de aproximadamente 6 m.

Este sitio fue considerado *a priori* el sitio menos contaminado, ya que el hecho de estar enmarcado dentro de una reserva ecológica, disminuye el impacto de la actividad urbano-industrial que este arroyo recibe aguas arriba.

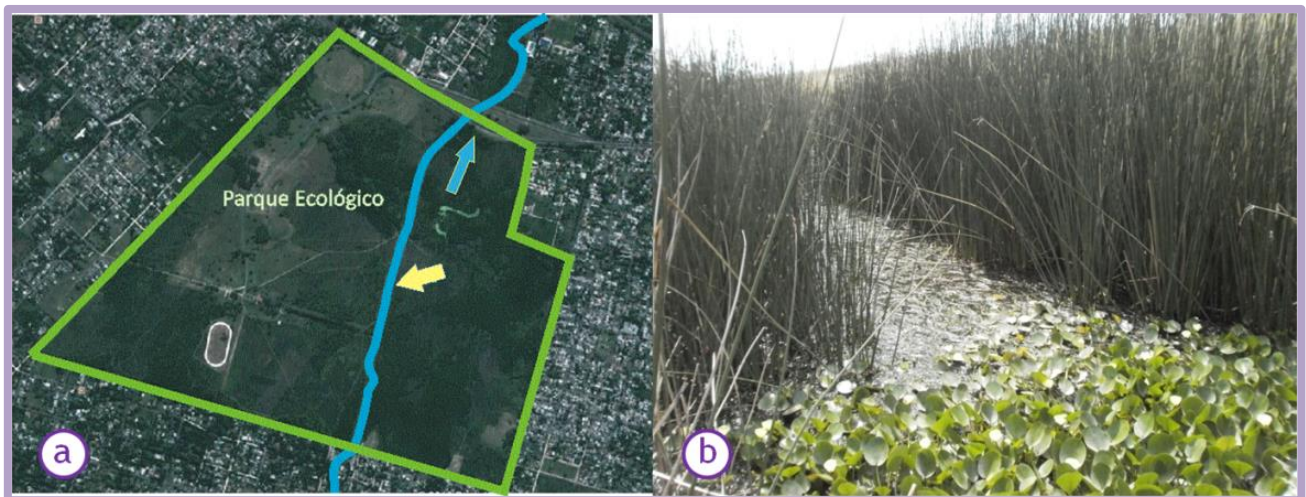


Fig. 5.4. a) vista aérea del sector del arroyo Martín que atraviesa el Parque Ecológico de La Plata; se indican el punto en donde se realizó la experiencia (flecha amarilla) y la dirección del flujo del agua (flecha turquesa). b) Aspecto del tramo en donde se dispusieron las jaulas para la experiencia.

Arroyo Rodríguez

La cuenca del arroyo Rodríguez abarca alrededor de 42km², y su curso principal tiene una longitud aproximada de 15 Km. Similar al resto de los arroyos de esta zona, presenta cabeceras semipermanentes sometidas a intensa actividad flori-hortícola. A partir del tramo medio las márgenes presentan elevadas pendientes y escasa vegetación acuática, y en algunos sectores las riberas pueden contener árboles y gramíneas (Fig. 5.5 b). La calidad del agua se ve muy empobrecida desde la cuenca alta hasta su desembocadura en el Río de la Plata producto de la incorporación de materia orgánica proveniente del vuelco ilegal de camiones atmosféricos, residuos de la industria frigorífica y vertidos de aguas servidas (Modenutti, 1987; Bauer *et al.*, 2002; López van Oosterom, 2014). El ensayo se llevó a cabo en la porción media del cauce (34° 53'57"S 58° 03'39" O), en un tramo ubicado aguas abajo de un barrio privado (Fig. 5.5.a).



Fig. 5.5 a) Foto satelital de parte del sector medio del arroyo Rodríguez; se indican el punto en donde se realizó la experiencia (aguas abajo del barrio privado, flecha amarilla) y la dirección del flujo (flecha roja). b) Aspecto general del tramo en donde se llevó a cabo el experimento.

Arroyo El Gato

La cuenca del Arroyo El Gato abarca unos 98 Km² y tiene aproximadamente 25 km de longitud, de los cuales sólo los últimos 15 Km -correspondientes a la cuenca media y baja- son de carácter permanente. Las cabeceras (también sometidas a intensa actividad florihortícola) conservan un cierto grado de naturalidad, presentando vegetación acuática, márgenes conservadas y cierta sinuosidad. Sin embargo, a partir del tramo medio las márgenes han sido modificadas mediante dragado generando taludes de 2-3 m de elevada pendiente e incluso en algunos sectores el arroyo se encuentra entubado. El desarrollo de vegetación acuática es escaso o casi nulo. En su recorrido, este arroyo atraviesa diversas zonas altamente urbanizadas de los alrededores de ciudad de La Plata, recibiendo efluentes domiciliarios e industriales sin tratamiento, vuelcos ilegales de residuos cloacales, basura y lixiviados de basureros municipales y otros basurales clandestinos. Todos estos vertidos derivan en un importante deterioro de la calidad del agua, convirtiéndolo en uno de los sistemas lóticos más contaminados de la región (CIMA-UNLP, 2011). Para este estudio se seleccionó un tramo situado a la cuenca inferior del arroyo, inmediatamente aguas arriba de la descarga de efluentes de una industria papelera (34° 53'29"S 57° 59'35" O; Fig. 5.6 a-d). El ancho mojado en esta sección es de aproximadamente 11 m y una profundidad promedio del cauce de 1,2 m aproximadamente (entre 0,15 y 0,7 m en las orillas). La velocidad de la corriente en las orillas, donde se colocaron las jaulas, fue de 0,15 m/s.

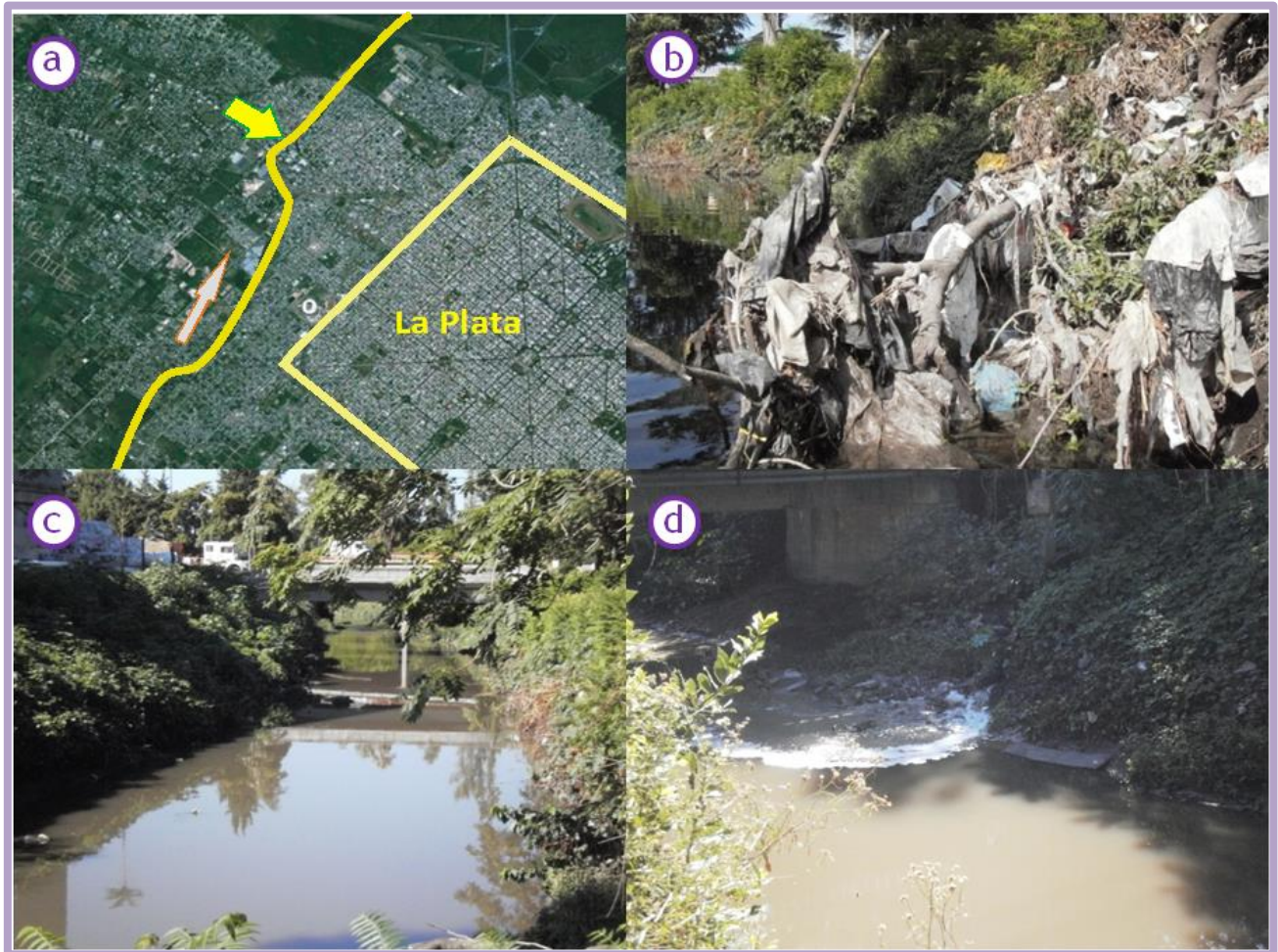


Fig. 5.6. a) Foto satelital de parte del tramo medio del arroyo El Gato; se indican el sitio en donde se llevó a cabo la experiencia (flecha amarilla) y la dirección del flujo (flecha gris; b) acumulación de residuos (basura) sobre la vegetación ribereña; c) Vista general del arroyo en el tramo estudiado; d) vertidos crudos de la papelera.

Experiencia de exposición

La experiencia se llevó a cabo en febrero de 2013 y su duración fue de 6 días. En cada arroyo se dispusieron 6 cámaras de PVC (jaulas) de 10 cm de largo y 5 cm de diámetro cerrados en los extremos con una malla de 1 mm² de apertura, sujeta con precintos plásticos (fig. 5.7 a). En cada jaula se colocaron 10 neonatos de *P. canaliculata* provenientes de masas de huevos simultáneas de distintas hembras criadas bajo condiciones controladas en el laboratorio. Los caracoles fueron seleccionados al azar de ese pool de neonatos con el objetivo de garantizar la heterogeneidad genética de los especímenes a ensayar. Todos los neonatos expuestos en esta experiencia contenían restos

de vitelo al comienzo de la misma. Las jaulas se fijaron a la vegetación con hilo de nylon, paralelas a la orilla, quedando completamente sumergidas y en contacto permanente con el sedimento del arroyo (fig. 5.7 b).



Fig. 5.7. a) Jaulas de PVC que se utilizaron en la experiencia; b) Jaula sujeta a la vegetación ripariana sumergida en el arroyo.

A modo de control, en el laboratorio también se colocaron 6 cámaras idénticas a las utilizadas en los arroyos, en un acuario de 78 litros de capacidad lleno con agua corriente y con un generador de flujo superficial para favorecer la circulación del agua (fig. 5.8). En este caso se utilizó agua corriente (y no mineral comercial) porque los neonatos presentaron elevada supervivencia en ella.



Fig. 5.8. Jaulas control que se mantuvieron en paralelo en el laboratorio.

Tanto en los arroyos como en el laboratorio, se registró la supervivencia a las 24, 48, 72, 120 y 144 hs. En cada oportunidad se contabilizaron los individuos vivos y muertos y se registraron los valores de los parámetros físico-químicos del agua mediante un sensor multiparamétrico HORIBA U40: temperatura, pH, potencial oxido-reducción (ORP), conductividad, turbidez, oxígeno disuelto (OD) y total de sólidos disueltos (TSD); al comienzo y final de la experiencia también se tomaron muestras de agua *in situ* para la posterior determinación en el laboratorio de la concentración de nutrientes de N y P (nitratos, nitritos, amonio y fósforo reactivo soluble-PRS), además de la demanda química de oxígeno (DQO) (APHA, 1998). Los muestreos se realizaron siempre a la misma hora, comenzando aproximadamente a las 10 de la mañana en el arroyo El Gato y finalizando a las 3 de la tarde en el laboratorio.

Los individuos se consideraron muertos si respondían a alguna de estas situaciones: a) la conchilla estaba vacía, b) el cuerpo estaba blanco, emergiendo de la conchilla y sin responder al estímulo de una leve punción con una aguja y c) si no mostraban movimiento alguno en un lapso de 5 minutos de observación (Lima Melo *et al.*, 2000). Los individuos que mostraban alguno de estos signos eran retirados de la jaula, dejando solamente los vivos, los cuales eran alimentados con lechuga fresca (*Lactuca sativa* L.). A las 144 horas se colectaron todas las jaulas contabilizándose la supervivencia final, a excepción de las colocadas en el arroyo Rodríguez que se sacaron a las 48 horas por registrarse una mortalidad del 100% en todas ellas.

Al final de la experiencia se midieron 20 caracoles de cada tratamiento bajo lupa binocular con ocular micrométrico y se fotografiaron. Los individuos analizados en esta instancia provenientes de los arroyos El Gato y Rodríguez corresponden a caracoles hallados muertos que se fijaron en alcohol al 70% en el campo. La medida tomada fue la de la altura de la abertura opercular (HA; Estebenet, 1998) a un aumento de 10 X y luego se convirtieron a largo total (Fig. A.1., Anexo II).

Análisis estadístico

Las diferencias espaciales y temporales de las variables físico-químicas (excepto los nutrientes y DQO) y la supervivencia a las 24, 48, 120 y 144, se analizaron mediante un ANOVA de 1 vía con un nivel de significancia de 0,05. El test *a posteriori* de Student-

Newman-Keuls (SNK) se utilizó para separar los grupos resultantes en caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos. Las diferencias en el tamaño alcanzado por los caracoles expuestos al agua del arroyo Martín y del control al final de la experiencia fueron analizadas mediante test de t para evaluar la existencia de efectos subletales sobre el crecimiento.

RESULTADOS

Calidad del agua de los arroyos

Los valores promedio (\pm desvío estándar) de las variables físico-químicas medidos en cada tratamiento se resumen en la tabla 5.1. La temperatura media del agua fue de 24 ± 3 °C y evidenció diferencias espaciales significativas alcanzando un valor máximo de 28 °C el arroyo Rodríguez ($p = 0,005$). Asimismo la turbidez fue máxima en ese arroyo (72 ± 33 ; $p = 0,002$). El pH fue ligeramente básico en todos los tratamientos ($8,3 \pm 0,1$) sin mostrar diferencias espaciales significativas. Los arroyos El Gato y Rodríguez presentaron valores significativamente menores de ORP (140 mV; $p = 0,003$) y OD (3 mg l/L; $p < 0,001$) y los mayores valores de DQO (40 mg O₂ /L) y conductividad (950 μ S/cm), aunque las diferencias entre tratamientos para esta última variable no fueron estadísticamente significativas (y por ende, tampoco lo fueron las de TSD). La mayor concentración promedio de nitratos fue registrada en el agua corriente utilizada en el control ($1,11 \pm 0,17$ mg N/L). En el arroyo Rodríguez se registraron los mayores valores de turbidez (71 ± 36 NTU), PRS (2,06 mg P/L) y amonio (2,52 mg N/L). En el arroyo El Gato, también se midieron elevados valores de PRS y predominaron las formas reducidas de nitrógeno (nitritos y amonio).

Tabla 5.1. Valores promedios (\pm desvío estándar) de las variables físico-químicas medidas en cada tratamiento. **Temp:** temperatura; **ORP:** Potencial Oxido-Reducción; **Cond:** Conductividad; **OD:** Oxígeno disuelto; **TSD:** Total sólidos disueltos; **PRS:** Fósforo Reactivo Soluble; **NO₃⁻:** Nitratos; **NO₂⁻:** Nitritos; **NH₄⁺:** Amonio; **DQO:** Demanda química de oxígeno

	A ° El Gato	A ° Martín	A ° Rodríguez	Control
Temp (°C)	23 ^a (± 1)	23 ^a (± 3)	28 ^b (± 1)	24 ^a (± 2)
pH	8,3($\pm 0,1$)	8,2 ($\pm 0,2$)	8,2 ($\pm 0,1$)	8,4 ($\pm 0,1$)
ORP (mV)	133 ^a (± 34)	168 ^{ab} (± 15)	134 ^a (± 19)	200 ^b (± 19)
Cond (μ S /cm)	960 (± 172)	797 (± 220)	953 (± 156)	690 (± 12)
Turb (NTU)	19 ^a (± 24)	32 ^{ab} (± 23)	71 ^b (± 36)	0 ^a
OD (mg/L)	2,3 ^c ($\pm 0,8$)	4,2 ^b ($\pm 1,4$)	2,8 ^c ($\pm 0,4$)	6,9 ^a ($\pm 0,3$)
TSD (g/L)	0,6 ($\pm 0,1$)	0,5 ($\pm 0,1$)	0,6 ($\pm 0,1$)	0,4 (0)
PRS(mgP/L)	1,18 ($\pm 0,08$)	0,86 ($\pm 0,08$)	2,06 ($\pm 0,03$)	0,26 ($\pm 0,06$)
NO ₃ ⁻ (mgN/L)	0,38 ($\pm 0,21$)	0,55 ($\pm 0,26$)	0,08 ($\pm 0,01$)	1,11 ($\pm 0,17$)
NO ₂ ⁻ (mgN/L)	0,14 ($\pm 0,05$)	0,04 ($\pm 0,02$)	0,04 (0)	0,06 ($\pm 0,06$)
NH ₄ ⁺ (mgN/L)	1,77($\pm 1,18$)	0,25 ($\pm 0,35$)	2,52 ($\pm 0,12$)	0,43 ($\pm 0,07$)
DQO(mgO ₂ /L)	41(± 11)	30 (± 2)	71 (± 2)	37 (± 4)

*Las letras indican los agrupamientos del SNK en presencia de diferencias espaciales significativas ($p < 0,05$)

La variabilidad temporal de algunos de los parámetros físico-químicos del agua medidos durante la experiencia en los distintos tratamientos se exhibe en la figura 5.9. En general, el agua del control exhibió muy poca variabilidad temporal. Los arroyos Martín y El Gato, por otra parte, mostraron una dinámica similar para las variables conductividad, turbidez y ORP, mientras que el OD exhibió un mayor valor en el arroyo Martín que El Gato (4,2 y 2,3 mg O₂/l, respectivamente). En el arroyo Rodríguez, esta última variable y el ORP no mostraron gran variación, mientras que si lo hicieron la conductividad y la turbidez.

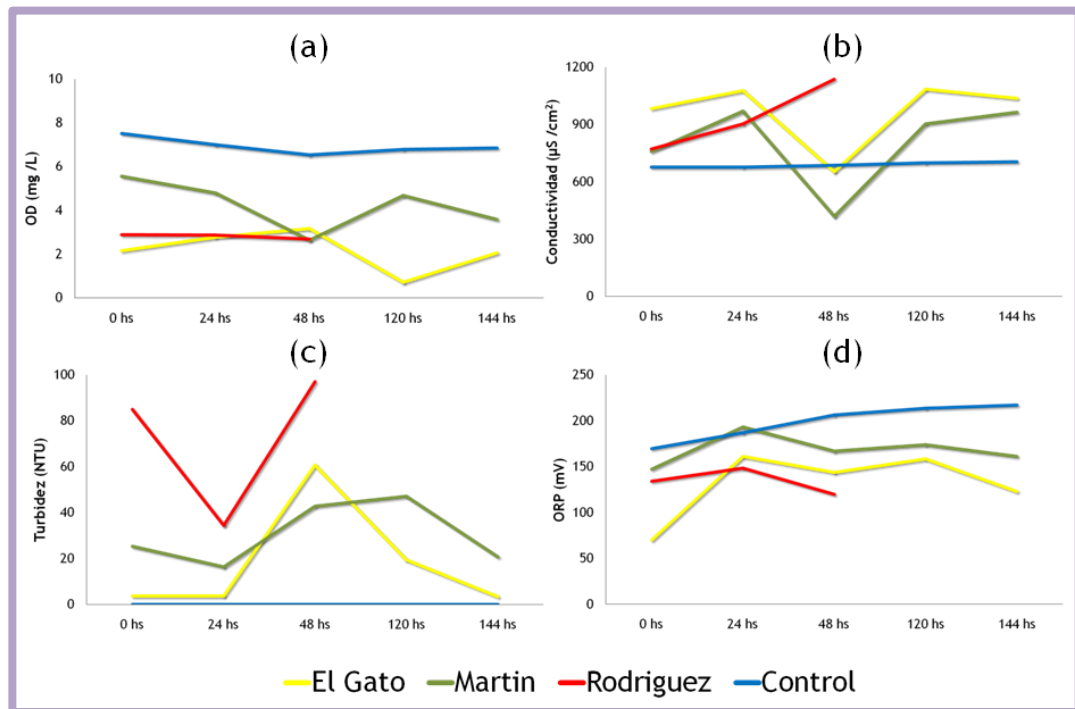


Fig. 5.9. Variación temporal de algunas de las variables en los distintos tratamientos (arroyos y control) durante la experiencia.

Supervivencia de los neonatos

Los valores de supervivencia en el tiempo para cada tratamiento (expresados en porcentaje) se muestran en la figura 5.10. A las 24 hs, la supervivencia de los caracoles expuestos en el arroyo Rodríguez fue significativamente menor (50%), pero no se hallaron diferencias entre los otros tratamientos (arroyos ni control). A las 48 hs, no se registraron caracoles vivos en ninguna de las jaulas depositadas en el arroyo Rodríguez; en los demás arroyos y el control, en cambio, la supervivencia en ese tiempo fue mayor al 75%, sin diferencias significativas entre ellos ($p < 0,05$). Los valores de supervivencia a las 120 horas, fueron mayores en el control y en el tratamiento del arroyo Martín que en arroyo El Gato y lo mismo se observó hacia el final de la experiencia (144 h). Las letras en mayúscula que se muestran en la figura 5.10 indican los agrupamientos generados por el test a posteriori SNK.

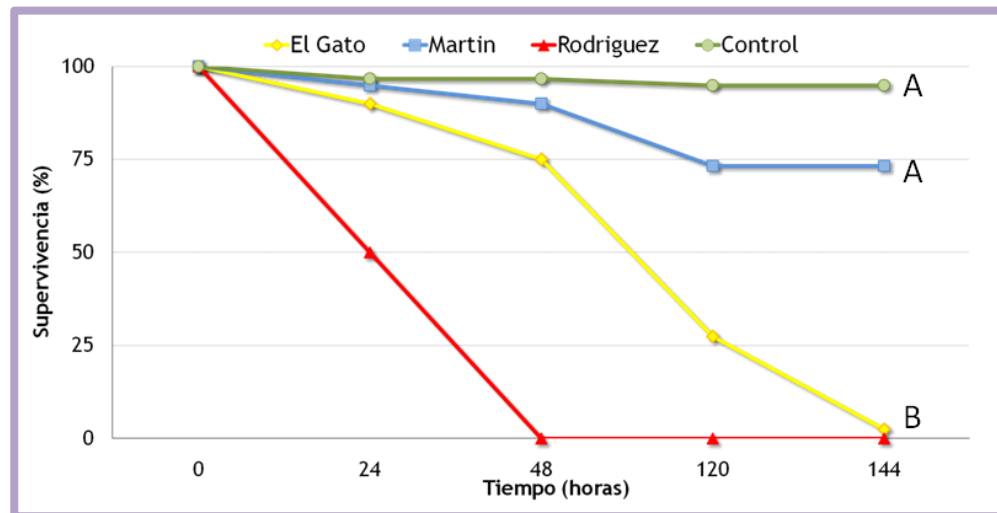


Fig. 5.10. Supervivencia de los neonatos de *Pomacea canaliculata* en cada tratamiento en el tiempo. Las letras indican las diferencias entre tratamientos al final de la experiencia.

Tamaño final

El promedio y desvío estándar de las tallas finales (LT) de los neonatos expuestos en los arroyos y en el laboratorio se muestran en la figura 5.11. El tamaño final de los neonatos expuesto al arroyo menos contaminado y el control no exhibieron diferencias significativas. Los caracoles muertos en los arroyos El Gato y Rodríguez conservaron restos de vitelo en el hepatopáncreas, mientras que los sobrevivientes del arroyo Martín y el control no sólo consumieron el vitelo, sino que también aumentaron su tamaño (fig. 5.11).

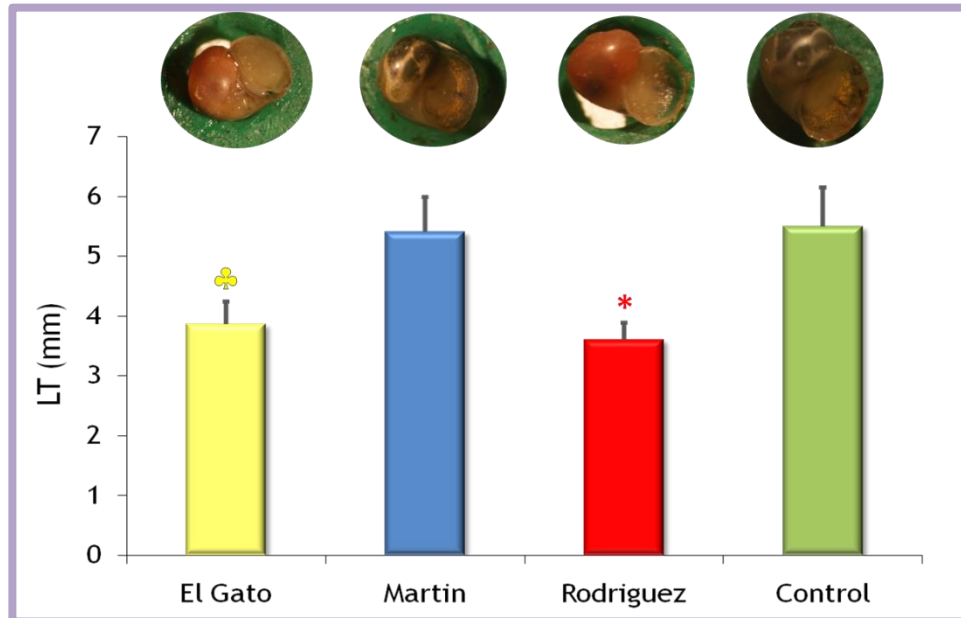


Fig. 5.11. Promedio y desvío estándar del tamaño final de los caracoles expuestos en el laboratorio (control) y en los arroyos. Como no hubieron sobrevivientes los arroyos Rodríguez y El Gato, el asterisco y el trébol indican que las tallas corresponden a caracoles muertos colectados a las 48 y 144 horas respectivamente. Aspecto de los caracoles al momento de la medición (aumento: 10X)

DISCUSIÓN

Según estudios demográficos llevados a cabo bajo condiciones controladas en laboratorio, *Pomacea canaliculata* es una especie que muestra elevada supervivencia hasta el primer año de vida (Estebenet, 1998). Esto se corresponde con los valores de supervivencia obtenidos en esta experiencia para los caracoles expuestos en el laboratorio (control) y el arroyo menos contaminado, confirmando que la mortalidad registrada en los arroyos más impactados está relacionada con las características del ambiente y no con cuestiones inherentes a la especie o a la herramienta utilizada. Asimismo, los resultados obtenidos coinciden con los de una experiencia de exposición *in situ* llevada a cabo con *Hyalella curvispina* y *Palaemonetes argentinus* en los arroyos El Gato, Rodríguez y El Pescado por Graça *et al.* (2002). Esos autores también registraron las mayores supervivencias en el control de laboratorio y en el arroyo menos contaminado (El Pescado), y una mortalidad del total de los organismos a las 48 hs en el arroyo Rodríguez. No obstante, la mortalidad de esos crustáceos en el arroyo El Gato fue del 100% a las 48 hs,

mientras que con *P. canaliculata* eso ocurrió luego de 144 hs de exposición. En un principio, estas diferencias sugerirían que los neonatos de *P. canaliculata* son menos sensibles que los dos crustáceos, pero debe tenerse en cuenta que *H. curvispina* y *P. argentinus* estuvieron expuestas a condiciones físico-químicas más desfavorables que *P. canaliculata*.

La baja concentración de oxígeno disuelto, sumado a las condiciones reductoras, elevados valores de conductividad, alto contenido de sólidos disueltos, elevada carga de PRS y altos valores de DQO registrados en el arroyo Rodríguez durante esta experiencia, confirman la mala calidad del agua de ese arroyo reportada previamente en numerosas publicaciones (Modenutti, 1987; Sampóns, 1989; Bauer et. al 2002; Licursi y Gómez, 2002; Tangorra 2004; Remes Lenicov *et al.*, 2005; López van Oosterom, 2014). El hecho de que se haya registrado una mortalidad del 100% de los individuos a las 48 hs indicaría que los neonatos de *P. canaliculata* son sensibles a la contaminación orgánica. La contaminación con desechos cloacales también disminuye la supervivencia de adultos de *Potamopyrgus antipodarum* expuestos *in situ* (Zounkova *et al.*, 2014), lo que sugiere que este tipo de ensayos resulta útil para el monitoreo de cuerpos de agua sometidos a este tipo de descargas.

Concentraciones de cobre mayores a 100 mg/Kg en el sedimento pueden ejercer efectos letales y subletales sobre el crecimiento y reproducción de organismos jóvenes de *Pomacea paludosa* y adultos de *P. canaliculata* (Peña y Poscidio, 2007; Hoang *et al.*, 2008). Las concentraciones de cobre en los sedimentos del arroyo El Gato duplican las concentraciones tóxicas antes mencionadas, pero además de ese metal, el agua y los sedimentos de este arroyo están contaminados con otros metales pesados y PCBs en cantidades que superan los niveles guía permitidos para la subsistencia de biota acuática (SPABA, 2007; CCME, 2014). Pese a que la causa exacta de la mortalidad de los neonatos de *P. canaliculata* en este arroyo no se pudo determinar a partir de las variables medidas, se destaca la importancia de la utilización de un ensayo de exposición *in situ*, en el que los organismos fueron expuestos a una sumatoria de factores y compuestos que representan una situación más realista que una simple exposición controlada en el laboratorio (Crane *et al.*, 2007).

Muchos bivalvos, por ser sésiles y filtradores, permiten ensayos *in situ* de exposición prolongada y debido a que manifiestan respuestas letales y subletales incluso a bajas

concentraciones de algunas sustancias. Estas características los han convertido en potentes herramientas de monitoreo frente a diversos tipos de contaminación (Gagné *et al.*, 2003). Sin embargo, según los resultados obtenidos en esta investigación, los neonatos de *P. canaliculata* también pueden brindar información acerca de las condiciones del ambiente luego de pocas horas de exposición, lo que la convierte en una especie indicadora efectiva. Más aún, si bien los adultos de esta especie son considerados de tolerancia intermedia a la contaminación, esta investigación pone en evidencia que los neonatos de *P. canaliculata* muestran elevada sensibilidad a la calidad del agua, exhibiendo mayor mortalidad en sitios con alto grado de contaminación. Por tanto, es una especie que podría utilizarse en estudios de monitoreo de la calidad del agua a través de un método económico, sencillo y de fácil aplicación. No obstante, también han de tenerse en cuenta algunas limitaciones que presenta este método:

- Si bien permite evaluar la calidad del agua, no se puede saber con exactitud cuáles son los factores de estrés a los que están sometidos los individuos. Por esto, es importante contar con la posibilidad de cotejar los resultados con otros indicadores químicos y biológicos de la calidad del agua;
- Los instrumentos (jaulas) están sujetos a posibles actos de vandalismo, extravío o ruptura;
- No permite, al menos con esta especie, realizar exposiciones prolongadas, ya que aunque los primeros días se pueda alimentar de restos de vitelo, después requiere de la alimentación de los animales, lo cual puede resultar laborioso. Además, una vez que los caracoles alcanzan una mayor talla, comienza a existir un efecto de interferencia intraespecífica (apiñamiento);
- En algunos casos, los organismos estresados permanecen inmóviles dentro de sus conchillas y pueden ser considerados muertos erróneamente. Para evitar esto, es necesario observar con atención los animales durante al menos 5 minutos, lo cual puede demandar demasiado tiempo (sobre todo si hay muchas jaulas en el sitio).

CONCLUSIONES

⊙ Los neonatos de *P. canaliculata* evidenciaron elevada sensibilidad a las condiciones ambientales de cada arroyo, habiéndose hallado diferencias significativas entre el sitio de referencia y los arroyos más impactados:

⊙ En el sitio con mayor contaminación orgánica se determinaron efectos letales anticipadamente; esto sugiere que en edad temprana, *P. canaliculata* es muy sensible a este tipo de contaminación;

⊙ La implementación de ensayos *in situ* con neonatos de *P. canaliculata* resultó útil en la determinación de la calidad del agua de los arroyos estudiados; no obstante, para su implementación como herramienta de monitoreo de los arroyos pampeanos se deben tener en cuenta sus limitaciones metodológicas y realizar una apropiada calibración;

En base a las conclusiones expuestas, las hipótesis planteadas en este capítulo no son rechazadas y se sugiere seguir con esta línea de investigación a fin de calibrar y validar este método.

A.C. Ferreira
Tesis Doctoral

2015



CONSIDERACIONES FINALES

CONSIDERACIONES FINALES

El empleo de múltiples líneas de evidencia es una estrategia útil para aumentar la fiabilidad y la validez al desarrollar herramientas de monitoreo (Crane *et al.*, 2007). Es por esto que en la presente investigación se evaluó la calidad del agua de los arroyos pampeanos estudiados contemplando varios niveles de organización (desde el uso del suelo a nivel de paisaje, hasta la composición bioquímica de los tejidos). Varias de estas líneas indicaron que la calidad del agua de los arroyos Martín y Buñirigo es menor que las de los arroyos El Pescado y Zapata. En el arroyo Martín, en particular, se detectaron efectos del uso urbano del suelo sobre las poblaciones de ambas especies a nivel de la proporción de sexos, estructura etaria, fecundidad y fertilidad. Éstos sugieren efectos subletales debidos a algún tipo de contaminación leve. No obstante, resultan necesarios más estudios para evaluar, por ejemplo, el efecto del valor nutritivo de las distintas macrófitas sobre la abundancia de *H. curvispina* y sobre distintos rasgos de *P. canaliculata*. Respecto al arroyo Buñirigo, el deterioro de la calidad del agua se refleja en la baja densidad y biomasa de ambas especies y en otros efectos subletales como pequeñas tallas de los organismos y baja fecundidad de *H. curvispina* (sin embargo, esto también podría ser consecuencia del tipo de vegetación dominante).

Entre los objetivos de esta investigación estuvo el de adquirir nuevas herramientas para la evaluación de la calidad del agua de cuerpos lóticos pampeanos a partir de los rasgos biológicos poblacionales, la bioquímica de huevos y tejidos de *P. canaliculata* y de ensayos de exposición *in situ*. En tal sentido se estudió la utilidad de las siguientes herramientas:

© **Rasgos poblacionales:** el empleo de uno o varios rasgos poblacionales depende de la especie que se seleccione para el estudio. Dado que ambas especies exhiben una enorme variabilidad interpoblacional ligada a las características del hábitat, el empleo de rasgos poblacionales para la evaluación de la calidad del agua debe realizarse cautelosamente. En la tabla 6.1 se resumen los rasgos poblacionales que podrían ser útiles para esta evaluación. En base a los resultados de esta tesis, se les adjudica un asterisco (*), si resultan útiles pero requieren de mucha información complementaria (acerca del hábitat, del resto de la biota, de otros parámetros

poblacionales, entre otros); dos asteriscos (**), si brindan información valiosa pero se requiere obligatoriamente un conocimiento previo de la dinámica poblacional; y tres asteriscos (***) si podrían brindar información de la calidad del agua sin necesidad de muchos análisis complementarios. De todos modos se destaca que en ningún caso el análisis de los rasgos puede realizarse separadamente de las características hidrológicas del cuerpo de agua (principalmente velocidad de la corriente y profundidad) y la cobertura y diversidad vegetal.

Tabla 6.1. Utilidad de los rasgos poblacionales de *Hyalella curvispina* y *Pomacea canaliculata* en la determinación de la calidad del agua. La cantidad de asteriscos se relaciona positivamente con la utilidad del rasgo.

Rasgos	<i>Hyalella curvispina</i>	<i>Pomacea canaliculata</i>
Densidad	***	*
Biomasa	***	**
Estructura etaria	*	*
Proporción de sexos	**	**
Fecundidad	***	***
Fertilidad	-	***
Crecimiento	-	**
Supervivencia	-	*

⊙ **Composición bioquímica de huevos y tejidos de *P. canaliculata*:** Se determinaron los contenidos de lípidos, proteínas y carbohidratos totales de los huevos y tejidos (glándula de albumen y digestiva) de *P. canaliculata*. Si bien no pudo hallarse una relación entre la composición bioquímica y la calidad del agua, estos resultados servirán de referencia para futuros estudios. En efecto, a partir de las diferencias halladas entre los caracoles de distintos arroyos surgen interrogantes que llevan a explorar aspectos más detallados de la bioquímica, tales como la activación de enzimas del catabolismo, proporciones de las distintas clases lipídicas y depósitos de glucógeno, entre otros. Esto

permitirá conocer mejor qué porcentaje de energía invierten los caracoles en crecimiento y reproducción respecto a la inversión en supervivencia.

⊙ **Ensayos de exposición *in situ*:** estos ensayos permitieron obtener una herramienta más sólida que las mencionadas anteriormente, ya que los neonatos de *P. canaliculata* resultaron sensibles a la exposición en sistemas altamente contaminados. Futuras mejoras y ensayos de calibración permitirán utilizar este método como herramienta de monitoreo para evaluar la calidad de las aguas de arroyos pampeanos.

PERSPECTIVAS

En base a los interrogantes que deja abiertos esta tesis, se proponen distintas líneas de investigación que se resumen a continuación:

- ⊙ Ampliar el conocimiento de los límites de tolerancia de las especies habitantes de los cuerpos de agua pampeanos -con principal énfasis en *H. curvispina* y *P. canaliculata*- a fin de ajustar o conocer los valores de sensibilidad/tolerancia frente a las condiciones locales.
- ⊙ Explorar el valor nutritivo de las macrófitas más representativas de estos arroyos, como *Hydrocleys nymphoides* en relación al efecto sobre el crecimiento y reproducción de *P. canaliculata*.
- ⊙ Evaluar los factores naturales y antropogénicos que afectan la fecundidad y fertilidad de *H. curvispina* y *P. canaliculata*, contemplando un mayor rango de condiciones ambientales (mayor cantidad de arroyos con distintas condiciones de calidad del agua).
- ⊙ Explorar aspectos del metabolismo que pueden repercutir sobre la reproducción y el crecimiento de *P. canaliculata* (expresión de enzimas catabólicas, estrés oxidativo, composición de clases lipídicas y acumulación de glucógeno).
- ⊙ Calibrar y validar la utilización de ensayos *in situ*, tanto para la supervivencia como otros efectos subletales en *P. canaliculata* y otros moluscos.

A.C. Ferreira
Tesis Doctoral

2015



BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- ⊙ Abrol, R., Bhattacharyya, D.K., Misra, K.K. (2014) Lipids and fatty acids in active and aestivated hermaphrodite pulmonate gastropod *Achatina fulica*. International Journal of Advanced Biological Research 4:287-299.
- ⊙ Alcalde, L., Derocco, N. N., y Rosset, S. D. (2010) Feeding in syntopy: diet of *Hydromedusa tectifera* and *Prynops hilarii* (Chelidae). Chelonion Conservation and Biology 9, 33-44.
- ⊙ Allan, J. D. (2004) Landscapes and riverscapes: The Influence of Land Use on Stream Ecosystems. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 35: 257-284.
- ⊙ Ali, M., Sreekrishnan, T. (2001) Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. Advances in Environmental Research 5:175-196.
- ⊙ Ambrosio, E.S., Ferreira, A.C., Rodrigues Capítulo, A. (2014) The potential use of *Sinelobus stanfordi* (Richardson, 1901) (Crustacea, Tanaidacea) as a biological indicator of water quality in a temperate estuary of South America. Limnetica 33:139-152.
- ⊙ Ansaldo, M., Nahabedian, D.E., Holmes-Brown, E., Agote, M., Ansay, C.V, Guerrero, N.R. V., Wider, E.A. (2006) Potential use of glycogen level as biomarker of chemical stress in *Biomphalaria glabrata*. Toxicology 224:119-127.
- ⊙ Antoniou, M., Habib, M.E.M., Howard, C.V., Jennings, R.C., Leifert, C. (2012) Teratogenic Effects of Glyphosate-Based Herbicides: Divergence of Regulatory Decisions from Scientific Evidence. Journal of Environmental and Analytical Toxicology S4:006.
- ⊙ APHA (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association. Washington DC. 1325 pp.
- ⊙ Argemi, F., Cianni, N., Porta, A. (2005) Disrupción endocrina : perspectivas ambientales y salud pública. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana 39:291-300.
- ⊙ Auge, M. (2006) Agua fuente de vida. La Plata, 27 pp. <http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/miguel/AguaFuenteVida.pdf>_(Ultimo acceso, Octubre 2014).
- ⊙ Barata, C., Baird, D. J., Amat, F., Soares, A.M.V.M. (2000) Comparing population response to contaminants between laboratory and field: an approach using *Daphnia magna* ehippial egg banks. Functional Ecology 14:513-523.
- ⊙ Barbour, M.T., Gerritsen, J., Snyder, B.D., Stribling, J.B. (1999) Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish, Second Edition. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C.

- ⊙ Bauer, D.E., Conde, M.E., Gómez, N. (2002) Phytoplankton of a small lowland stream related to water quality and hydraulic discontinuities. *Archiv fuer Hydrobiologie* 153:421-441.
- ⊙ Bauer, D.E., Donadelli, J., Gómez, N., Licursi, M., Ocón, C., Paggi, A.C., Rodríguez-Capítulo, A. (2002) Ecological status of the Pampean plain streams and rivers (Argentina). *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 28:259-262.
- ⊙ Belisle, B.W., Stickle, W.B. (1978) Seasonal patterns in the biochemical constituents and body component indexes of the muricid gastropod, *Thais haemastoma*. *The Biological Bulletin* 155:259-272.
- ⊙ Besse, J.P., Garric, J. (2009) Progestagens for human use, exposure and hazard assessment for the aquatic environment. *Environmental Pollution* 157:3485-3494.
- ⊙ Bonada, N., Rieradevall, M., Prat, N., Resh, V.H. (2006) Benthic macroinvertebrate assemblages and macrohabitat connectivity in Mediterranean-climate streams of northern California. *The North American Benthological Society* 25:32-43.
- ⊙ Brinkhurst, R.O. (1993) Future directions in freshwater biomonitoring using benthic macroinvertebrates. En D.M. Rosenberg y V.H. Resh (Eds.): *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Chapman y Hall, New York, 488 pp.
- ⊙ Bruns, D. A. (2005) Macroinvertebrate response to land cover, habitat, and water chemistry in a mining-impacted river ecosystem : A GIS watershed analysis. *Aquatic Sciences* 67: 403-423.
- ⊙ Burela, S., Martín, P.R. (2009) Sequential pathways in the mating behavior of the apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia* 51:157-164.
- ⊙ Burlakova, L.E., Karatayev, A.Y., Padilla, D.K., Cartwright, L.D., Hollas, D.N. (2009) Wetland Restoration and Invasive Species: Apple snail (*Pomacea insularum*) Feeding on Native and Invasive Aquatic Plants. *Restoration Ecology* 17:433-440.
- ⊙ Burlakova, L.E., Padilla, D.K., Karatayev, A.Y., Hollas, D.N., Cartwright, L.D., Nichol, K.D. (2010) Differences in population dynamics and potential impacts of a freshwater invader driven by temporal habitat stability. *Biological Invasions* 12:927-941.
- ⊙ C.I.M.A., UNLP (2011) Calidad ambiental de la Cuenca del Arroyo del Gato. Informe ambiental del Componente Piloto: Cuenca del Arroyo Del Gato, Provincia de Buenos Aires. Proyecto PNUD-FREPLATA.
- ⊙ Calow, P. (1991) Physiological costs of combating chemical toxicants: ecological implications. *Comparative Pharmacology and Toxicology* 100:3-6.
- ⊙ Calow, P., Sibly, M. (1990) A physiological basis of population processes : ecotoxicological implications. *Functional Ecology* 4:283-288.
- ⊙ CCME, Canadian Council of Ministers of the Environment (2014) <http://cegg-rcqe.ccme.ca/en/index.html> (Último acceso: Octubre 2014).

- ⊙ Camili3n, M., Manassero, M., Hurtado, M. A., Ronco, A. E. (2003) Copper, Lead and Zinc Distribution in Soils and Sediments of the South-Western Coast of the R3o De La Plata Estuary. *Journal of Soils and Sediments* 3: 213-220.
- ⊙ Carlsson, N.O.L., Br3nmark, C., Hansson, L.A. (2004a) Invading herbivory: the golden apple snail alters ecosystem functioning in Asian wetlands. *Ecology* 85:1575-1580.
- ⊙ Carlsson, N.O.L., Kestrup, A., Martensson, M., Nystrom, P. (2004b) Lethal and non-lethal effects of multiple indigenous predators on the invasive golden apple snail (*Pomacea canaliculata*). *Freshwater Biology* 49:1269-1279.
- ⊙ Carlsson, N.O.L., Lacoursiere, J.O. (2005) Herbivory on aquatic vascular plants by the introduced golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) in Lao PDR. *Biological Invasions* 7:233-241.
- ⊙ Carlsson, N.O.L., Bronmark, C. (2006) Size-dependent effects of an invasive herbivorous snail (*Pomacea canaliculata*) on macrophytes and periphyton in Asian wetlands. *Freshwater Biology* 51:695-704.
- ⊙ Casagrande, C., Dridi, M., Boudouresque, C. (2006) Abundance, population structure and production of macro-invertebrate shredders in a Mediterranean brackish lagoon, Lake Ichkeul, Tunisia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 66:437-446.
- ⊙ Casset, M.A., Momo, F.R., Giorgi, A. (2001) Din3mica poblacional de dos especies de anf3podos y su relaci3n con la vegetaci3n acu3tica en un microambiente de la cuenca del r3o Luj3n (Argentina). *Ecolog3a Austral* 11:79-85.
- ⊙ Catal3n, M., Dreon, M.S., Heras, H., Pollero, R.J., Fern3ndez, S. N., Winik, B. (2006) Pallial oviduct of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda): ultrastructural studies of the parenchymal cellular types involved in the metabolism of perivitellins. *Cell and Tissue Research* 324:523-533.
- ⊙ Cazzaniga, N.J., Estebenet, A.L. (1984) Revisi3n y notas sobre los h3bitos alimentarios de los Ampullariidae (Gastropoda). *Historia Natural* 4:213-224.
- ⊙ Chang, W.C. (1985) The ecological studies on the Ampullaria snails (Cyclophoracea: Ampullariidae). *Bulletin of Malacology R.O.C.* 11:43-51.
- ⊙ Chapman, D. (1996) Water Quality Assessments. A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring (2da ed.). E&FN Spon. 72 pp.
- ⊙ Chintiroglou, C.C., Antoniadou, C., Baxevanis, a., Damianidis, P., Karalis, P., Vafidis, D. (2004) Peracarida populations of hard substrate assemblages in ports of the NW Aegean Sea (eastern Mediterranean). *Helgoland Marine Research* 58: 54-61.
- ⊙ Chiodi Boudet, L., Polizzi, P., Romero, M. B., Robles, A., Gerpe, M. (2013) Lethal and sublethal effects of cadmium in the white shrimp *Palaemonetes argentinus*: a comparison between populations from contaminated and reference sites. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 89: 52-8.

- ⊙ Chiu, Y., Wu, J., Hsieh, T., Liang, S., Chen, C. (2014) Alterations of biochemical indicators in hepatopancreas of the apple snail, *Pomacea canaliculata*, from paddy fields in Taiwan. *Journal of Environmental Biology* 35:667-673.
- ⊙ Chung, P.P., Hyne, R.V, Mann, R.M., Ballard, J.W.O. (2008) Genetic and life-history trait variation of the amphipod *Melita plumulosa* from polluted and unpolluted waterways in eastern Australia. *Science of the Total Environment* 403:222-229.
- ⊙ Clapcott, J.E., Collier, K.J., Death, R.G., Goodwin, E.O., Harding, J.S., Kelly, D., Young, R.G. (2012) Quantifying relationships between land-use gradients and structural and functional indicators of stream ecological integrity. *Freshwater Biology* 57:74-90.
- ⊙ CONICET (2009) Evaluación de la información científica vinculada al glifosato en su incidencia sobre la salud humana y el ambiente. 133 pp.
- ⊙ Cortelezzi, A. (2010) Hábitats funcionales y macroinvertebrados en cauces modificados de arroyos de llanura: impacto sobre la calidad ecológica. Tesis doctoral. FCNyM. UNLP
- ⊙ Cortelezzi, A, Paggi, A.C., Rodríguez, M., Rodrigues Capítulo, A. (2011) Taxonomic and nontaxonomic responses to ecological changes in an urban lowland stream through the use of Chironomidae (Diptera) larvae. *The Science of the Total Environment* 409:1344-1350.
- ⊙ Cortelezzi, A., Sierra, M.V., Gómez, N., Marinelli, C., Rodrigues Capítulo, A. (2013) Macrophytes, epipelic biofilm, and invertebrates as biotic indicators of physical habitat degradation of lowland streams (Argentina). *Environmental Monitoring and Assessment* 185:5801-5815.
- ⊙ Cottingham, P., Walsh, C., Rooney, G. and Fletcher, T. (2004) Urbanization impacts on stream ecology - from syndrome to cure? Outcomes of workshops held at the Symposium on Urbanization and Stream Ecology Melbourne University, Melbourne, Australia 8-10 de Diciembre de 2003, CRCFE, Canberra.
- ⊙ Cowie, R.H. (2002) Apple snails (Ampullariidae) as agricultural pests: their biology, impacts and management. En: G.M. Barker (Ed.) *Mollusks as crop pests*. CABI Publishing, Wallingford, New Zealand. 468 pp.
- ⊙ Cowie, R.H., Hayes, K.A., Thiengo, S.C. (2006) What are apple snails? Confused taxonomy and some preliminary resolution. En: R. C. Joshi y L. S. Sebastian (Eds.), *Global advances in ecology and management of golden apple snails*. Philippine Rice Research Institute, Nueva Ecija, 600 pp.
- ⊙ Crane, M. (1991) The lethal and sublethal responses of *Gammarus pulex* to stress: sensitivity and sources of variation in an in situ bioassay. *Environmental Toxicology and Chemistry* 10:1331-1339.

- ⊙ Crane, M., Burton, À.G.A., Culp, J.M., Greenberg, M.S., Munkittrick, K.R., Ribeiro, R., Saint-Jean, S.D. (2007) Review of Aquatic *In Situ* Approaches for Stressor and Effect Diagnosis. Integrated Environmental Assessment and Management 3:234-245.
- ⊙ Davis, S.N., Golladay, S.W., Vellidis, G., Pringle, C.M. (1999) Assessing biological effects of animal production on intermittent coastal plain streams. En: Proceedings of the 1999 Georgia Water Resources Conference (Hatcher J. ed.) University of Georgia. 291-294.
- ⊙ De la Ossa Carretero, J.A., Del Pilar Ruso, Y., Giménez Casaldueiro, F., Sánchez Lizaso, J.L. (2010) Sensitivity of tanaid *Apseudes latreillei* (Milne-Edwards) populations to sewage pollution. Marine Environmental Research 69:309-317.
- ⊙ Depledge, M.H., Billingham, Z. (1999) Ecological Significance of Endocrine Disruption in Marine Invertebrates. Marine Pollution Bulletin 39:32-38.
- ⊙ Di Marzio, W.D., Sáenz, M.E., Alberdi, J.L., Tortorelli, M.C. (1999) Assessment of the toxicity of stabilized sludges using *Hyalella curvispina* (Amphipod) bioassays. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 63:654-659.
- ⊙ Di Marzio, W.D., Sáenz, M., Alberdi, J., Tortorelli, M., Silvana, G. (2005) Risk assessment of domestic and industrial effluents unloaded into a freshwater environment. Ecotoxicology and Environmental Safety 61:380-91.
- ⊙ Dolédec, S., Statzner, B., Bournard, M. (1999) Species traits for future biomonitoring across ecoregions: patterns along a human-impacted river. Freshwater Biology 42:737-758.
- ⊙ Dolédec, S., Statzner, B. (2008) Invertebrate traits for the biomonitoring of large European rivers : an assessment of specific types of human impact. Freshwater Biology 53:617-634.
- ⊙ Domínguez, E., Fernández H. (2009) Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos: sistemática y biología. Fundación Lillo Eds. Argentina. 656 pp.
- ⊙ Dreon, M., Lavarias, S., Garin, C.F., Heras, H., Pollero, R.J. (2002) Synthesis, Distribution, and Levels of an Egg Lipoprotein From the Apple Snail *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Gastropoda). Journal of Experimental Zoology 292: 323-330.
- ⊙ Dreon, M.S., Schinella, G., Heras, H., Pollero, R.J. (2004) Antioxidant defense system in the apple snail eggs, the role of ovorubin. Archives of Biochemistry and Biophysics 422:1-8.
- ⊙ Dreon, M.S., Heras, H., Pollero, R.J. (2006) Workshop: Biology of Ampullariidae Biochemical composition, tissue origin and functional properties of egg perivitellins from *Pomacea canaliculata*. Biocell 30:359-365.
- ⊙ Dreon, M.S., Ituarte, S., Ceolín, M., Heras, H. (2008) Global shape and pH stability of ovorubin, an oligomeric protein from the eggs of *Pomacea canaliculata*. The FEBS Journal 275:4522-4530.

- ⊙ Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28:350-356.
- ⊙ Duft, M., Schmitt, C., Bachmann, J., Brandelik, C., Schulte-Oehlmann, U., Oehlmann, J. (2007) Prosobranch snails as test organisms for the assessment of endocrine active chemicals - an overview and a guideline proposal for a reproduction test with the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. *Ecotoxicology* 16:169-182.
- ⊙ Duncan, M., Fried, B., Sherma, J. (1987) Lipids in fed and starved *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda). *Comparative Biochemistry and Physiology* 86:663-665.
- ⊙ Dutra, B.K., Santos, R.B., Bueno, A.P., Oliveira, G.T. (2008) Seasonal variations in the biochemical composition and lipoperoxidation of *Hyalella curvispina* (Crustacea, Amphipoda). *Comparative Biochemistry and Physiology A* 151:322-328.
- ⊙ Ellis, J.B. (2000) Risk assessment approaches for ecosystem responses to transient pollution events in urban receiving waters. *Chemosphere* 41:85-91.
- ⊙ Elozegi, A., Sabater, S. (2009) Conceptos y técnicas en ecología fluvial. Fundación BBVA. Bilbao. 440 pp.
- ⊙ Estebenet, A.L., Cazzaniga, N.J. (1992) Growth and demography of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) under laboratory conditions. *Malacological Review* 25:1-12.
- ⊙ Estebenet, A.L. (1995) Food and feeding in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Veliger* 38:277-283.
- ⊙ Estebenet, A.L. (1998) Allometric growth and insight on sexual dimorphism in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Malacologia* 39:207-213.
- ⊙ Estebenet, A.L., Cazzaniga, N.J. (1998) Sex-related differential growth in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Journal of Molluscan Studies* 64:119-123.
- ⊙ Estebenet, A.L., Martín, P.R. (2002) *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae): life-history traits and their plasticity. *Biocell* 26:83-89.
- ⊙ Estoy, G.F., Yusa, Y., Wada, T., Sakurai, H., Tsuchida, K. (2002) Size and age at first copulation and spawning of the apple snail, *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Applied Entomology and Zoology* 37:199-205.
- ⊙ FAO (2012) http://www.fao.org/agronoticias/agronoticias/detalle/it/?dyna_fef%5Buid%5D=161730 (Ultimo acceso: Octubre de 2014).
- ⊙ Feijoó, C. S., Giorgi, A., García, E., Momo, F. (1999) Temporal and spatial variability in streams of a pampean basin. *Hydrobiologia* 394: 41-52.
- ⊙ Feijoó, C., Rigacci, L., Doyle, S. (2005) Ecological regionalization of pampean streams in Argentina. *Verhandlungen Des Internationalen Verein Limnologie* 29:748-753.

- ⊙ Feijoó, C.S., Lombardo, R.J. (2007) Baseline water quality and macrophyte assemblages in Pampean streams: a regional approach. *Water Research* 41:1399-410.
- ⊙ Feld, C.K., Hering, D. (2007) Community structure or function: effects of environmental stress on benthic macroinvertebrates at different spatial scales. *Freshwater Biology* 52:1380-1399.
- ⊙ Feld, C.K., de Bello, F., Dolédec, S. (2014) Biodiversity of traits and species both show weak responses to hydromorphological alteration in lowland river macroinvertebrates. *Freshwater Biology* 59:233-248.
- ⊙ Ferreiro, N.A., Feijoó, C., Giorgi, A., Leggieri, L. (2011) Effects of macrophyte heterogeneity and food availability on structural parameters of the macroinvertebrate community in a Pampean stream. *Hydrobiologia* 664:199-211.
- ⊙ Ferreiro, N.A. (2012) Influencia de la heterogeneidad ambiental de los lechos de macrófitas en los organismos acompañantes en un arroyo pampeano. Tesis doctoral. FCEyN. UBA.
- ⊙ Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226:497-509.
- ⊙ Forbes, V.E., Olsen, M., Palmqvist, A., Calow, P. (2010) Environmentally sensitive life-cycle traits have low elasticity: implications for theory and practice. *Ecological Applications* 20:1449-1455.
- ⊙ Franza, J.A. (2009) Proceso de internalización de derechos de aguas. Evolución del derecho de los cursos de agua internacionales: principales conferencias, cumbres y foros mundiales. En: *El Agua*. Pastorino, L. F. (Ed.). Ediciones cooperativas. Buenos Aires.
- ⊙ Frassa, M.V., Ceolín, M., Dreon, M.S., Heras, H. (2010). Structure and stability of the neurotoxin PV2 from the eggs of the apple snail *Pomacea canaliculata*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1804:1492-1499.
- ⊙ Frengüelli, J. (1956) Rasgos generales de la hidrografía de la Provincia de Buenos Aires. *LEMIT* 2:1-19.
- ⊙ Frye, C.A., Bo, E., Calamandrei, G., Calzà, L., Dessì-Fulgheri, F., Fernández, M., Panzica, G.C. (2011) Endocrine disrupters: a review of some sources, effects, and mechanisms of actions on behaviour and neuroendocrine systems. *Journal of Neuroendocrinology* 24:144-159.
- ⊙ Gagné, F., Blaise, C., Pellerin, J., Pelletier, E., Douville, M., Gauthier-Clerc, S., Viglino, L. (2003) Sex alteration in soft-shell clams (*Mya arenaria*) in an intertidal zone of the Saint Lawrence River (Quebec, Canada). *Comparative Biochemistry and Physiology B* 134:189-198.
- ⊙ Galassi, M.E., Franceschini, M.C., Neiff, A.P. (2006) Population Estimates of *Hyaella curvispina* Shoemaker (Amphipoda) in Aquatic Vegetation of Northeastern Argentinian Ponds. *Acta Limnologica Brasileira* 18:101-108.

- ⊙ García, A.R., Iorio, A.F. (2005) Incidencia de la descarga de efluentes de un feedlot en la calidad de agua del arroyo Morales, Buenos Aires - Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía. UBA* 25:167-176.
- ⊙ García, M.E. (2008) Estudio del efecto de la contaminación sobre invertebrados del complejo zoobentónico en arroyos de la llanura. Tesis doctoral. FCNyM. UNLP.
- ⊙ García, M.E., Rodríguez Capítulo, A., Ferrari, L. (2010) Age-related differential sensitivity to cadmium in *Hyalella curvispina* (Amphipoda) and implications in ecotoxicity studies. *Ecotoxicology and environmental safety* 73:771-778.
- ⊙ Geiszinger, A., Bonnineau, C., Faggiano, L., Guasch, H., López-Doval, J.C., Proia, L., Sabater, S. (2009) The relevance of the community approach linking chemical and biological analyses in pollution assessment. *Trends in Analytical Chemistry* 28:619-626.
- ⊙ Gibbons, W.N., Mackie, G.L. (1991) The Relationship between Environmental Variables and Demographic Patterns of *Hyalella* The relationship between environmental variables and demographic patterns of *Hyalella azteca* (Crustacea: Amphipoda). *Journal of The North American Benthological Society* 10:444-454.
- ⊙ Giorgi, A., Feijoó, C., Tell, G. (2005) Primary producers in a Pampean stream: temporal variation and structuring role. *Biodiversity and Conservation* 14:1699-1718.
- ⊙ Giusto, A., Salibián, A., Ferrari, L. (2014) Biomonitoring toxicity of natural sediments using juvenile *Hyalella curvispina* (Amphipoda) as test species: evaluation of early effect endpoints. *Ecotoxicology* 23:293-303.
- ⊙ Godz, P., González Belo, R.A., Costa, J.L., Lazovich, M., Vidal, N. (1983) La Pampa deprimida de la Provincia de Buenos Aires- Argentina. En *Coloquio Internacional sobre Hidrología de Llanuras, 1983*. Olavarría. Argentina.
- ⊙ Gómez, N., Licursi, M. (2001) The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology* 35: 173-181.
- ⊙ Gómez, N., Cocheró, J. (2013) Un índice para evaluar la calidad del hábitat en la Franja Costera Sur del Río de la Plata y su vinculación con otros indicadores ambientales. *Ecología Austral* 23:18-26.
- ⊙ Gonzalo, C., Camargo, J.A. (2013) The impact of an industrial effluent on the water quality, submersed macrophytes and benthic macroinvertebrates in a dammed river of Central Spain. *Chemosphere* 93:1117-1124.
- ⊙ Gosselin, L., Qian, P. (1997) Juvenile mortality in benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series* 146:265-282.
- ⊙ Graça, M.S., Rodríguez-Capítulo, A., Ocón, C., Gómez, N. (2002). *In situ* tests for water quality assessment: a case study in Pampean rivers. *Water research* 36:4033-4033.

- ⊙ Greenway, M. (2007) The Role of Macrophytes in Nutrient Removal using Constructed Wetlands. En: Singh, S.N. y Tripathi, R.D. (Eds). Environmental Bioremediation Technologies. Springer. 518 pp.
- ⊙ Gust, M., Gagné, F., Berlioz-barbier, A., Besse, J. P., Buronfosse, T., Tournier, M., Cren-Olivé, C. (2014) Caged mudsnail *Potamopyrgus antipodarum* (Gray) as an integrated field biomonitoring tool: Exposure assessment and reprotoxic effects of water column contamination. Water Research 54:222-236.
- ⊙ Hallgren, P., Sorita, Z., Berglund, O., Persson, A. (2012) Effects of 17 α -ethinylestradiol on individual life-history parameters and estimated population growth rates of the freshwater gastropods *Radix balthica* and *Bithynia tentaculata*. Ecotoxicology 21:803-810.
- ⊙ Hastwell, G.T., Daniel, A.J., Vivian-Smith, G. (2008) Predicting invasiveness in exotic species: do subtropical native and invasive exotic aquatic plants differ in their growth responses to macronutrients? Diversity and Distributions 14:243-251.
- ⊙ Hayes, K.A., Joshi, R.C., Thiengo, S.C., Cowie, R.H. (2008) Out of South America: multiple origins of non-native apple snails in Asia. Diversity and Distributions 27:47-58.
- ⊙ Heino, J. (2005) Functional biodiversity of macroinvertebrate assemblages along major ecological gradients of boreal headwater streams. Freshwater Biology 50:1578-1587.
- ⊙ Heras, H., Garin C.F., Pollero, R.J. (1998) Biochemical Composition and Energy Sources During Embryo Development and in Early Juveniles of the Snail *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Gastropoda). Journal of Experimental Zoology 280:375-383.
- ⊙ Heras, H., Pollero, R.J. (2002) Minireview: Lipoproteins from plasma and perivelline fluid of the apple snail *Pomacea canaliculata*. Biocell 26:111-118.
- ⊙ Heras, H., Frassa, M.V., Fernández, P.E., Galosi, C.M., Gimeno, E.J., Dreon, M.S. (2008) First egg protein with a neurotoxic effect on mice. Toxicon 52:481-488.
- ⊙ Hilsenhoff, W.L. (1987) An improved biotic index of organic stream pollution. Great Lakes Entomologist 20:31-39.
- ⊙ Hoang, T.C., Rogevich, E.C., Rand, G.M., Gardinali, P.R., Frakes, R., Bargar, T.A. (2008) Copper desorption in flooded agricultural soils and toxicity to the Florida apple snail (*Pomacea paludosa*): implications in Everglades restoration. Environmental pollution 154:338-347.
- ⊙ Hoang, T.C., Pryor, R.L., Rand, G.M., Frakes, R.A. (2011) Ecotoxicology and Environmental Safety Bioaccumulation and toxicity of copper in outdoor freshwater microcosms. Ecotoxicology and Environmental Safety 74:1011-1020.
- ⊙ Hurtado, M.A., Giménez, J.E., Cabral, M.G. (2006) Análisis ambiental del partido de La Plata. Aportes del ordenamiento territorial. 1ª Edición. Consejo Federal de Inversiones. Buenos Aires. 139 pp.

- ⊙ Hyne, R. V. y Maher, W. A. (2003) Invertebrate biomarkers : links to toxicosis that predict population decline. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54: 366-374.
- ⊙ INA (2010) Prospectiva hídrica. Instituto Nacional del Agua. Argentina. 189 pp.
- ⊙ IBODA. Instituto de Botánica Darwinion (2012). Flora argentina. Plantas vasculares de la República Argentina. <http://www.floraargentina.edu.ar/> (último acceso: 14/3/15).
- ⊙ Ituarte, S., Dreon, M.S., Pasquevich, M.Y., Fernández, P.E., Heras, H. (2010) Carbohydrates and glycoforms of the major egg perivitellins from *Pomacea* apple snails (Architaenioglossa: Ampullariidae). *Comparative Biochemistry and Physiology B* 157:66-72.
- ⊙ Jager, T., Klok, C. (2010) Extrapolating toxic effects on individuals to the population level: the role of dynamic energy budgets. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* 365:3531-3540.
- ⊙ Jergentz, S., Pessacq, P., Mugni, H., Bonetto, C., Schulz, R. (2004) Linking in situ bioassays and population dynamics of macroinvertebrates to assess agricultural contamination in streams of the Argentine pampa. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59:133-141.
- ⊙ Jobling, S. (2003) Comparative responses of mollusks and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquatic Toxicology* 65:205-220.
- ⊙ Joshi, R. (2007) Problems with the management of the golden apple snail *Pomacea canaliculata*: an important exotic pest of rice in Asia. En: Vreysen, M.J.B., Robinson, A.S. y Hendrichs, J. (Eds.) *Area-Wide Control of Insect Pests*. Springer. 789 pp.
- ⊙ Joshi, R.C., Sebastian, L.S. (2006) *Global advances in Ecology and Management*. Nueva Ecija, Philippine Rice Research Institute. 600 pp.
- ⊙ Karraker, N.E., Dudgeon, D. (2014) Invasive apple snails (*Pomacea canaliculata*) are predators of amphibians in South China. *Biological Invasions* 16:1785-1789.
- ⊙ Ketata, I., Denier, X., Hamza-chaffai, A., Minier, C. (2008) Endocrine-related reproductive effects in molluscs. *Comparative Biochemistry and Physiology* 147:261-270.
- ⊙ Koch, E., Winik, B.C., Castro-Vazquez, A. (2009) Development beyond the gastrula stage and digestive organogenesis in the apple-snail *Pomacea canaliculata* (Architaenioglossa, Ampullariidae). *Biocell* 33:49-65.
- ⊙ Korfiatis, K.J., Stamou, G.P. (1999) Habitat Templates and the Changing Worldview of Ecology. *Biology and Philosophy* 14:375-393.
- ⊙ Kruatrachue, M., Sumritdee, C., Pokethitiyook, P., Singhakaew, S. (2011) Histopathological effects of contaminated sediments on golden apple snail (*Pomacea canaliculata*, Lamarck 1822). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 86:10-14.

- ⊙ Kwong, A.K., Chan, R.K.Y., Qiu, J. (2009) The Potential of the Invasive Snail *Pomacea canaliculata* as a Predator of Various Life-Stages of Five Species of Freshwater Snails. *Malacologia* 51:343-356.
- ⊙ Lahitte, H.B., Hurrell, J.A., Mehltreter, K. Belgrano, M.J., Jankowki, L.S., Haloua, M.P., Canda, G. (1997) Plantas de la Costa. LOLA. Buenos Aires.
- ⊙ Lambert, P., Dehnel, P.A. (1974) Seasonal variation in biochemical composition during the reproductive cycle of the intertidal gastropod *Thais lamellosa* Gmelin (Gastropoda, Prosobranchia). *Canadian Journal of Zoologie* 52:305-318.
- ⊙ Lavarias, S., Pollero, R.J., Heras, H. (2006) Activation of lipid catabolism by the water-soluble fraction of petroleum in the crustacean *Macrobrachium borellii*. *Aquatic Toxicology* 77:190-196.
- ⊙ Licursi, M., Gómez, N. (2002) Benthic diatoms and some environmental conditions in three lowland streams. *Annales de Limnologie* 38: 109-118.
- ⊙ Liddle, M.J. Scorgie, H.R.A. (1980) The effects of recreation on freshwater plants and animals: A review. *Biological Conservation* 17:183-206.
- ⊙ Lima Melo, L.E., Coler, R.A., Watanabe, T., Batalla, J.F. (2000) Developing the gastropod *Pomacea lineata* (Spix, 1827) as a toxicity test organism. *Hydrobiologia* 429:73-78.
- ⊙ López Soriano, J., Quiñonero Salgado, S., Tarruela, A. (2009) Presencia masiva de *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) (Gastropoda: Ampullariidae) en el Delta del Ebro (Cataluña, España). *Spira* 3:117-121.
- ⊙ López van Oosterom, M.V, Ocón, C.S., Brancolini, F., Maroñas, M.E., Sendra, E.D., Rodrigues Capítulo, A. (2013) Trophic relationships between macroinvertebrates and fish in a pampean lowland stream (Argentina). *Iheringia* 103:57-65.
- ⊙ López van Oosterom, M.V. (2014) Relaciones tróficas de los principales macroinvertebrados en sistemas lóticos de la llanura pampeana: su relación con la calidad del agua. Tesis doctoral. FCNyM. UNLP.
- ⊙ Lopretto, E.C., Tell, G. (1995) Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su uso. Tomo III. Ediciones Sur, Argentina.
- ⊙ Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S. (2000) 100 of the world's worst invasive alien species. Invasive Species Specialist Group, Auckland, 12 pp.
- ⊙ Lowry, O.H., Rosebrough, N.L., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193:265-275.
- ⊙ Lv, S., Zhang, Y., Liu, H.-X., Hu, L., Yang, K., Steinmann, P., Zhou, X.-N. (2009a) Invasive snails and an emerging infectious disease: results from the first national survey on *Angiostrongylus cantonensis* in China. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 3:e368.

- ⊙ Lv, S., Zhang, Y., Liu, H.-X., Zhang, C.-W., Steinmann, P., Zhou, X.-N., Utzinger, J. (2009b) *Angiostrongylus cantonensis*: morphological and behavioral investigation within the freshwater snail *Pomacea canaliculata*. *Parasitology Research* 104:1351-1359.
- ⊙ Lyssimachou, A., Navarro, J. C., Bachmann, J., Porte, C. (2009) Triphenyltin alters lipid homeostasis in females of the ramshorn snail *Marisa cornuarietis*. *Environmental Pollution* 157:1714-20.
- ⊙ Machado, A. (2004) An index of naturalness. *Journal for Nature Conservation* 12: 95-110.
- ⊙ Magbanua, F.S., Townsend, C.R., Hageman, K.J., Matthaei, C.D. (2013) Individual and combined effects of fine sediment and the herbicide glyphosate on benthic macroinvertebrates and stream ecosystem function. *Freshwater biology* 58:1729-1744.
- ⊙ Magdaleno, A., Puig, A., de Cabo, L., Salinas, C., Arreghini, S., Korol, S., Moretton, J. (2001) Water Pollution in an Urban Argentine River. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 67:408-415.
- ⊙ Maiola, O.C., Gabellone, N.A. y Hernández, M.A. (2003) Inundaciones en la región pampeana. Universidad Nacional de La Plata. La Plata. 266 pp.
- ⊙ Mandaville, S.M. (2002) Benthic Macroinvertebrates in Taxa Tolerance Values, Metrics, and Protocols. Soil and Water Conservation Society of Metro Halifax. <http://chebucto.ca/science/swcs/swcs.html>
- ⊙ Margalef, R. (1983) *Limnología*. Omega. Barcelona. 1010 pp.
- ⊙ Mariñelarena, A. (2006) Manual de autoconstrucción de sistemas de tratamiento de aguas residuales domiciliarias. Freplata, Argentina. 72 pp.
- ⊙ Martín, P.R., Estebenet, A.L., Cazzaniga, N.J. (2001) Factors affecting the distribution of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) along its southernmost natural limit. *Malacologia* 43:13-23.
- ⊙ Martín, P.R., Estebenet, A.L. (2002) Interpopulation variation in life-history traits of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) in Southwestern Buenos Aires Province, Argentina. *Malacologia* 44:153-163.
- ⊙ Martin, C. M., Bayha, K. M., Valentine, J. F. (2012) Establishment of the Invasive Island Apple Snail *Pomacea insularum* (Gastropoda: Ampullaridae) and Eradication Efforts in Mobile, Alabama, USA. *Gulf of Mexico Science* (1-2): 30-38.
- ⊙ Matsukura, K., Tsumuki, H., Izumi, Y., Wada, T. (2008) Changes in chemical components in the freshwater apple snail, *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae), in relation to the development of its cold hardiness. *Cryobiology* 56:131-137.

- ⊙ Mellado Díaz, A., Suarez Alonso, M.L., Vidal-Abarca Gutierrez, M.R. (2008) Biological traits of stream macroinvertebrates from a semi-arid catchment: patterns along complex environmental gradients. *Habitat* 53:1-21.
- ⊙ Menezes, S., Baird, D.J., Soares, A.M.V.M. (2010) Beyond taxonomy: a review of macroinvertebrate trait-based community descriptors as tools for freshwater biomonitoring. *Journal of Applied Ecology* 47:711-719.
- ⊙ Mercado, L. M. (2000) Evaluación de la calidad del agua de seis sistemas lóticos pampásicos mediante el estudio de variables físicas y químicas. *Revista Del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 2:27-35.
- ⊙ Mercado, L. M. (2001) Estructura del fitoplancton de seis sistemas lóticos de la provincia de Buenos Aires (Argentina). *Revista Del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 3: 21-31.
- ⊙ Merrit, R.W., Cummins, K.W. (1996) An introduction of the aquatic insects of North America. Kendall/Hunt. Iowa. USA.
- ⊙ Miserendino, M.L., Pizzolón, L.A. (2000) Macroinvertebrates of a fluvial system in Patagonia: Altitudinal zonation and functional structure. *Archiv für Hydrobiologie* 150:55-83.
- ⊙ Miserendino, M. L. (2001) Length-mass relationships for macroinvertebrates in freshwater environments of Patagonia (Argentina). *Ecologia Austral* 11: 3-8.
- ⊙ Miserendino, M.L., Brand, C., Prinzio, C.Y. (2008) Assessing Urban Impacts on Water Quality, Benthic Communities and Fish in Streams of the Andes Mountains, Patagonia (Argentina). *Water, Air, and Soil Pollution* 194:91-110.
- ⊙ Modenutti, B. E. (1987) Caracterización y variación espacial del zooplancton del arroyo Rodríguez (Provincia de Buenos Aires, Argentina). *Anales Del Instituto de Ciencias Del Mar Y Limnología* 14.
- ⊙ Montagna, M.C., Collins, P.A. (2007) Survival and growth of *Palaemonetes argentinus* (Decapoda: Caridea) exposed to insecticides with chlorpyrifos and endosulfan as active element. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 53:371-378.
- ⊙ Morrison, W.E., Hay, M.E. (2010) Feeding and growth of native, invasive and non-invasive alien apple snails (Ampullariidae) in the United States: Invasives eat more and grow more. *Biological Invasions* 13:945-955.
- ⊙ Mugni, H.D. (2008) Concentración de nutrientes y toxicidad de pesticidas en aguas superficiales de cuencas rurales. Tesis doctoral. FCNyM. UNLP.
- ⊙ Mugni, H., Paracampo, A., Bonetto, C. (2013) Nutrient concentrations in a Pampasic first order stream with different land uses in the surrounding plots (Buenos Aires, Argentina). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 91:391-395.

- ⊙ Ocón, C., Lopez van Oosterom, M.V., Muñoz, M.I., Rodrigues-Capítulo, A. (2013) Macroinvertebrate trophic responses to nutrient addition in a temperate stream in South America. *Fundamental and Applied Ecology* 182:17-30.
- ⊙ Odum, E.P. (1971) *Fundamentals of ecology*. 3era ed. W.B. Saunders, Philadelphia, USA 547 pp.
- ⊙ Oya, S., Hirai, Y., Miyahara, Y. (1987) Overwintering of the apple snail, *Pomacea canaliculata* Lamarck, in north Kyushu. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 31:206-212.
- ⊙ Paracampo, A. (2012). Relación entre la estructura de las comunidades ícticas y la calidad del agua en arroyos de cuencas con diferentes usos del suelo. Tesis doctoral. FCNyM. UNLP.
- ⊙ Pennafirme, S., & Soares-Gomes, A. (2009) Population Biology and Reproduction of *Kalliapseudes schubartii* Mañé-Garzón, 1949 (Peracarida, Tanaidacea) in a Tropical Coastal Lagoon, Itaipu, Southeastern Brazil. *Crustaceana* 82: 1509-1526.
- ⊙ Peña, S.C., Pocsidio, G.N. (2007) Influence of copper on the feeding rate, growth and reproduction of the golden apple snail, *Pomacea canaliculata* Lamarck. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 79:606-608.
- ⊙ Pizani, N.V., Estebenet, A.L., Martín, P.R. (2005) Effects of submersion and aerial exposure on clutches and hatchlings of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *American Malacological Bulletin* 20:55-63.
- ⊙ PNUMA (2007) *GEO-4. Medioambiente para el desarrollo*. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. 574 pp.
- ⊙ Qiu, J.W., Kwong, K.L. (2009) Effects of macrophytes on feeding and life-history traits of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*. *Freshwater Biology* 54:1720-1730.
- ⊙ Quirós, R., Boveri M. B., Petrachi C. A., Renella A. M., Rosso J. J., Sosnovsky A., von Bernard H. T. (2006) Los efectos de la agriculturización del humedal pampeano sobre la eutrofización de sus lagunas. En Tundizi, J. G., Matsumura-Tundisi T., Sidagis Galli C. (eds), *Eutrofização na América do Sul: Causas, conseqüências e tecnologias de gerenciamento e controle*: 1-16.
- ⊙ Rawlings, T., Hayes, K., Cowie, R.H., Collins, T. M. (2007) The identity, distribution, and impacts of non-native apple snails in the continental United States. *BMC Evolutionary Biology* 7:97.
- ⊙ Rabinovich, J. E. (1978) *Ecología de Poblaciones Animales*. Chesneau (Ed.) Washington DC: Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. 170 pp.
- ⊙ Remes Lenicov, M., Colautti, D.C., López, H.L. (2005) Ictiofauna de un ambiente lótico suburbano: el Arroyo Rodríguez (Buenos Aires, Argentina). *Biología Acuática* 22:223-230.

- ⊙ Rimoldi, F. (2009) Evaluación ecotoxicológica de plaguicidas usados en el paquete tecnológico Soja RR, sobre el sistema *Rachiplusia nu-Chrysoperla externa*. Tesis doctoral. FCE. UNLP.
- ⊙ Rodrigues Capítulo A (1999) Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de ambientes lóticos en el área pampeana. Revista de la Sociedad Entomologica Argentina 58: 208-217.
- ⊙ Rodrigues Capítulo, A., Gómez, N. (2003) Diatomeas y macroinvertebrados bentónicos en el monitoreo de sistemas lóticos bonaerenses. Biología Acuática 21:1-67.
- ⊙ Rodrigues Capítulo, A., Tangorra, M., Ocón, C. (2001) Use of benthic macroinvertebrates to assess the biological status of Pampean streams in Argentina. Aquatic Ecology 35:109-119.
- ⊙ Rodrigues Capítulo, A., Muñoz, I., Bonada, N., Gaudes, A., Tomanova, S. (2009) La biota de los ríos: los invertebrados. En: Elosgi A., Sabater S. (Eds.), Conceptos y técnicas en ecología fluvial. Bilbao: Fundación BBVA.
- ⊙ Rodríguez, E.M., Medesani, D., Fingerman, M. (2007) Endocrine disruption in crustaceans due to pollutants: a review. Comparative Biochemistry and Physiology A 146:661-71.
- ⊙ Ronco, A., Camilión, C., Manassero, M. J. (2001) Geochemistry of heavy metals in bottom sediments from streams of the western coast of the Rio de La Plata Estuary, Argentina. Environmental Geochemistry and Health 23: 89-103.
- ⊙ Ronco, A., Peluso, L., Jurado, M., Bulus Rossini, G., Salibian, A. (2008) Screening of sediment pollution in tributaries from the southwestern coast of the Rio de la Plata estuary. Latin American Journal of Sedimentology and Basin Analysis 15:67-75.
- ⊙ Rumi, A., Gregoric, D.E.G., Núñez, V., Darrigran, G.A. (2008) Malacología Latinoamericana. Moluscos de agua dulce de Argentina. Revista de Biología Tropical 56:77-111.
- ⊙ Saigo, M., Marchese, M., Montalto, L. (2009) Hábitos alimentarios de *Hyalella curvispina* Shoemaker, 1942 (Amphipoda: Gammaridea) en ambientes leníticos de la llanura aluvial del río Paraná medio. Natura Neotropicalis 40:43-59.
- ⊙ Salman, J.M., Nasar, A.J. (2013) Total Lipids and Total Protein in two Mollusca Species as Environmental Biomarker of Pollution in Euphrates River, Iraq. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 2:207-214.
- ⊙ Sampóns, M. R. (1989). Oligoquetos bentónicos del Arroyo Rodríguez (provincia de Buenos Aires). Neotropica 35: 101-112.
- ⊙ Schindler, D., Vallentyne, J.R. (2008). The Algal Bowl: Overfertilization of the World's Freshwaters and Estuaries. The University of Alberta Press, Edmonton, Alberta. 334 pp.
- ⊙ Scholz, S., Renner, P., Belanger, S. E., Busquet, F., Davi, R., Demeneix, B., Embry, M. R. (2013). Alternatives to in vivo tests to detect endocrine disrupting chemicals (EDCs) in fish and

amphibians--screening for estrogen, androgen and thyroid hormone disruption. *Critical Reviews in Toxicology* 43:45-72.

⊙ Schulz, R., Liess, M. (1999) A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics. *Aquatic Toxicology* 46:155-176.

⊙ Scott, A.P. (2013) Do mollusks use vertebrate sex steroids as reproductive hormones? II. Critical review of the evidence that steroids have biological effects. *Steroids* 78:268-281.

⊙ Secretaría de Política Ambiental de la Provincia de Buenos Aires (SPABA). (2007). Sistema de gestión territorial-ambiental de la cuenca del arroyo del Gato. 304 pp.

⊙ Seuffert, M.E., Martín, P.R. (2010) Dependence on aerial respiration and its influence on microdistribution in the invasive freshwater snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae). *Biological Invasions* 12:1695-1708.

⊙ Seuffert, M.E., Martín, P.R. (2013) Juvenile growth and survival of the apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae) reared at different constant temperatures. *SpringerPlus* 2:312.

⊙ Sierra, M.V. (2008) Microbentos de sistemas lóticos pampeanos y su relación con la calidad del agua : respuestas estructurales y funcionales. Tesis Doctoral. FCNyM, UNLP.

⊙ Sodré, F.F., Locatelli, M.A.F., Jardim, W. F. (2010) Occurrence of Emerging Contaminants in Brazilian Drinking Waters : A Sewage-To-Tap Issue. *Water, Air and Soil Pollution* 206:57-67.

⊙ Southwood, T.R.E. (1977) Habitat, the templet for ecological strategies? *Journal of Animal Ecology* 46:337-365.

⊙ Stickle, W.B. (1975) The reproductive physiology of the intertidal prosobranch *Thais lamellosa* (Gmelin) II. Seasonal changes in biochemical composition. *The Biological Bulletin* 148:448-460.

⊙ Strong, D.R.J. (1972) Life History Variation Among Populations of an Amphipod (*Hyaella azteca*). *Ecology* 53:1103-1111.

⊙ Taebi, A., Droste, R.L. (2004) Pollution loads in urban runoff and sanitary wastewater. *Science of The Total Environment* 327:175-184.

⊙ Tamburi, N.E., Martín, P.R. (2008) Reaction norms of size and age at maturity of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) under a gradient of food deprivation. *Journal of Molluscan Studies* 75:19-26.

⊙ Tamburi, N.E., Martín, P.R. (2009) Feeding rates and food conversion efficiencies in the apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia* 51:221-232.

⊙ Tanaka, K., Watanabe, T., Higuchi, H., Miyamoto, K., Yusa, Y., Kiyonaga, T. (1999) Density-dependent growth and reproduction of the apple snail, *Pomacea canaliculata*: a density manipulation experiment in a paddy field. *Researches On Population Ecology* 41:253-262.

- ⊙ Tangorra, M. (2004) Colonización y descomposición de especies vegetales por invertebrados en sistemas lóticos pampásicos. Tesis doctoral. FCNyM, UNLP.
- ⊙ Tomanova, S., Goitia, E., Helešic, J. (2006) Trophic Levels and Functional Feeding Groups of Macroinvertebrates in Neotropical Streams. *Hydrobiologia* 556:251-264.
- ⊙ Topalián, M., Rovedatti, M., Castañé, P., Salibián, A. (1999) Pollution in a lowland river system. A case study: the Reconquista river (Buenos Aires, Argentina). *Water, Air and Soil Pollution* 114:287-302.
- ⊙ Usseglio-Polatera, P., Bournaud, M., Richoux, P. (2000) Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates : relationships and definition of groups with similar traits. *Freshwater Biology* 43:175-205.
- ⊙ Vandenberg, G.F., Adriaens, D., Verslycke, T., Janssen, C.R. (2003) Effects of 17 α -ethinylestradiol on sexual development of the amphipod *Hyaella azteca*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54:216-222.
- ⊙ Verberk, W.C.E.P., Siepel, H., Esselink, H. (2008) Life-history strategies in freshwater macroinvertebrates. *Freshwater Biology* 53:1722-1738.
- ⊙ Vidal, M.L., Basseres, A., Narbonne, J.F. (2002) Seasonal variations of pollution biomarkers in two populations of *Corbicula fluminea*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 131:133-151.
- ⊙ Viglizzo, E.F., Jobbágy, E. (2006) Expansión de la Frontera Agropecuaria en Argentina y su Impacto Ecológico-Ambiental. INTA, Argentina. 58 pp.
- ⊙ Vogel, J.R., Gilley, J.E., Cottrell, G.L., Woodbury, B.L., Berry, E.D., Eigenberg, R.A. (2011) Transport of trace metals in runoff from an amended and pond-ash mended feedlot surfaces. *American Society of Agricultural and Biological Engineers* 54:1269-1279.
- ⊙ Wallace, J.B., Grubaugh, J.W., Whiles, M.R. (1996) Biotic Indices and Stream Ecosystem Processes: Results from an Experimental Study biotic indices and stream ecosystem. *Ecological Applications* 6:140-151.
- ⊙ Wallace, J. B., Webster, J. R. (1996) The role of macroinvertebrates in stream ecosystem function. *Annual Review of Entomology* 41: 115-139.
- ⊙ Walsh, C.J., Roy, A.H., Feminella, J.W., Cottingham, P.D., Groffman, P.M., Morgan, R.P. (2005) The urban stream syndrome : current knowledge and the search for a cure. *Journal of North America Benthological Society* 24:706-723.
- ⊙ Watanabe, T., Lima Melo, L.E., Font Batalla, J., Paz, R.J., Coler, R.A. (2000) The use of *Pomacea lineata* (Spix 1824) (Mollusca: Prosobranchia) as a chronic toxicity test organism. *Seminário Internacional sobre Agrotóxicos* (pp. 1-11).

- ⊙ Wellborn, G.A. (1995) Predator Community Composition and Patterns of Variation in Life History and Morphology Among *Hyaella* (Amphipoda) Populations in Southeast Michigan. *American Midland Naturalist* 133:322-332.
- ⊙ Wirth, E. F., Lund, S. A, Fulton, M. H., Scott, G. I. (2002) Reproductive alterations in adult grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, following sublethal, chronic endosulfan exposure. *Aquatic Toxicology* 59: 93-99.
- ⊙ Wu, J., Wu, Y., Li, M., Chiu, Y., Liu, M., Liu, L. (2011) Reproduction and Juvenile Growth of the Invasive Apple Snails. *Zoological Studies* 50:61-68.
- ⊙ Würdig, N.L., Cenzano, C.S.S., Motta Marques, D. (2007) Macroinvertebrate communities structure in different environments of the Taim Hydrological System in the state of Rio Grande do Sul. *Acta Limnologica Brasileira* 19:427-438.
- ⊙ Yusa, Y., Sugiura, N., Wada, T. (2006) Predatory Potential of Freshwater Animals on an Invasive Agricultural Pest, the Apple Snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae), in Southern Japan. *Biological Invasions* 8:137-147.
- ⊙ Zounkova, R., Jalova, V., Janisova, M., Ocelka, T., Juncikova, J., Halirova, J., Hilscherova, K. (2014) In situ effects of urban river pollution on the mudsnail *Potamopyrgus antipodarum* as part of an integrated assessment. *Aquatic Toxicology* 150:83-92.

A.C. Ferreira
Tesis Doctoral

2015



ANEXOS

ANEXOS

ANEXO I

Tabla A.1. Densidades de macroinvertebrados (ind/m²) en la vegetación (veg) y el sedimento (sed) de los arroyos (A°) estudiados, registradas el muestreo de **noviembre de 2009**.

Taxa		V.T	A° Martín		A° El Pescado		A° Zapata		A° Buñirigo	
			Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed
Cnidarios	<i>Hydra</i> sp.	5	3	67			87	100		
Turbelarios	Dugesidae	6	172	67					54	
	Themnocephala	6								
	Turb indet.	6	1				21	200	11	
Nematoda		10	31	2500	2	233	8	1833	6	2367
Oligochaeta		8	134	5400	743	17833	752	16800	990	4567
Hirudinea		8	38	6933	12	367	7	433	61	267
Bivalvos	<i>Musculium</i> sp.	6		33						
	<i>Piscidium</i> sp.	6	2	600		33				
	<i>Limnoperna fortunei</i>	?								
Gasteropodos	<i>Uncancylus</i> sp.	6	87	333	126	2000	15	33	53	
	<i>Hebetancylus</i> sp.	6		33					26	
	<i>Biomphalaria</i> sp.	7	36	33	13	200	566	367		
	<i>Drepanotrema</i> sp.	7	5		70	33	72	167	1	
	<i>Physa</i> sp.	8	23	33					1	
	<i>Pomacea canaliculata</i>	6	12							
	<i>Heleobia</i> sp.	7	33		34	333			8	967
Crustaceos	<i>Heterocypris similis</i>	8	2627	20767	53		132	6367	13	
	<i>Chlamydotheca</i> sp.	8	3		36	100	108	67		
	<i>Gomphocythere</i> sp.	8					3			
	Cyclopoidea	8	63	400	116	233	454	3733	91	100
	Calanoidea	8			2	167				
	<i>Simocephalus</i> sp.	8					65	33	3	
	<i>Diaphanosoma</i> sp.	8		33	166	67	2			
	<i>Ceriodaphnia</i>	8								
	<i>Daphnia</i> sp.	8	3		19				2	
	<i>Macrotrix</i> sp.	8			7					
	Chydorido indet	8			1			133		
	<i>Scapholeberis</i> sp.	8								
	Branchiura	?								
	<i>Hyaella curvispina</i>	8	2405	2800	214	167	323	433	859	1033
	<i>Palaemonetes argentinus</i>	4							3	
	<i>Trichodactylus</i> sp.	4								
Colémbolos	Poduridae	10	29	2233				67		
	Sminthuridae	10								
	Isotomidae	10	5		2		1	67		

Taxa (cont.)		V.T	A° Martín		A° El Pescado		A° Zapata		A° Buñirigo	
			Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed
Coleópteros	<i>Desmopachria</i> sp.	5								
	<i>Laccophilus</i> sp.	5								
	<i>Liodessus</i> sp.	5			3		3		2	
	<i>Megadytes</i> sp.	5								
	<i>Hidrochus</i> sp.	5								
	Larva indet.	5								
	<i>Berosus</i> sp.	5					1		1	
	<i>Derallus</i> sp.	5			1				3	
	<i>Enochrus</i> sp.	5								
	<i>Paracymus</i> sp.	5								
	<i>Tropisternus lateralis</i>	5								
	<i>Tropisternus</i> sp.	5								
	<i>Suphis</i> sp.	4								
	<i>Suphisselus</i> sp.	4					2			
Dípteros	Ceratopogonidae	6						67		
	Chironomidae	8	26	567	155	1233	11	67	825	133
	Culicidae	8								
	Ephydriidae	6		33				67		
	Sciomyzidae	6			2	67				
	Stratiomyidae	7		33			1			
	Tabanidae	6	2							
Odonatos	Coenagrionidae	8	15		18		5		21	
	<i>Aeshna bonariensis</i>	3	2		11				3	
	<i>Perithemis</i> sp.	2								33
Efemerópteros	<i>Caenis</i> sp.	6							21	133
	<i>Campsurus</i> sp.	4								
	<i>Callibetis</i> sp.	6								
Tricópteros		1					1			
Heterópteros	<i>Belostoma</i> sp.	5	1		7				3	
	Corixidae	10	4		21		3		1	
	Notonectidae	?								
	Phasmidae	?								
	<i>Stridulivelia</i> sp.	6								
Acaros	<i>Hydrachnidia</i> sp.	6		67	2		7	133	2	33

Tabla A.2. Densidades de macroinvertebrados (ind/m²) en la vegetación (veg) y el sedimento (sed) de los arroyos (A°) estudiados, registradas el muestreo de marzo de 2010.

Taxa		V.T	A° Martín		A° El Pescado		A° Zapata		A° Buñirigo	
			Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed
Cnidarios	<i>Hydra</i> sp.	5					3		1	
Turbelarios	Dugesiiidae	6	1	67			1			
	Themnocephala	6							5	
	Turb indet.	6					1			
Nematoda		10	2	200	2	767	3	1400		67
Oligochaeta		8	154	2300	149	14467	2578	17233	716	1633
Hirudinea		8	30	2433	6	233	51	2467	5	67
Bivalvos	<i>Musculium</i> sp.	6								
	<i>Piscidium</i> sp.	6	4	400			2			
	<i>Limnoperna fortunei</i>	?								
Gasteropodos	<i>Uncancylus</i> sp.	6	93	1433	58	1367	53	133	49	33
	<i>Hebetancylus</i> sp.	6	1				14		7	
	<i>Biomphalaria</i> sp.	7	8		6		5		1	
	<i>Drepanotrema</i> sp.	7	2	133	63		46	67		
	<i>Physa</i> sp.	8	1							
	<i>Pomacea canaliculata</i>	6	62	1300	2		44			
	<i>Heleobia</i> sp.	7	27	67	4	100				
Crustaceos	<i>Heterocypris similis</i>	8	2		1		251	167		
	<i>Chlamydotheca</i> sp.	8					158	133	1	
	<i>Gomphocythere</i> sp.	8					859	567	1	67
	Cyclopoidea	8	7	67	196	33	752	1167	6	
	Calanoidea	8					6	267		
	<i>Simocephalus</i> sp.	8			19		232	500	2	
	<i>Diaphanosoma</i> sp.	8			13	200	288	367		
	<i>Ceriodaphnia</i>	8								
	<i>Daphnia</i> sp.	8			7		175	100	2	
	<i>Macrotrix</i> sp.	8				33	14			
	Chydorido indet	8				200	133	133		
	<i>Scapholeberis</i> sp.	8					2			
	Branchiura	?								
	<i>Hyaella curvispina</i>	8	1		4		89	33		
	<i>Palaemonetes argentinus</i>	4								
	<i>Trichodactylus</i> sp.	4					1			
Colémbolos	Poduridae	10	4	167	1		1			
	Sminthuridae	10					2			
	Isotomidae	10			2		13			

Taxa (cont.)		V.T	A° Martín		A° El Pescado		A° Zapata		A° Buñirigo	
			Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed
Coleópteros	<i>Desmopachria</i> sp.	5								
	<i>Laccophilus</i> sp.	5			1		1			
	<i>Liodessus</i> sp.	5					1	100		
	<i>Megadytes</i> sp.	5								
	<i>Hidrochus</i> sp.	5								
	Larva indet.	5					41			
	<i>Berosus</i> sp.	5								
	<i>Derallus</i> sp.	5								
	<i>Enochrus</i> sp.	5			4		3	100		
	<i>Paracymus</i> sp.	5								
	<i>Tropisternus lateralis</i>	5			1					
	<i>Tropisternus</i> sp.	5								
	<i>Suphis</i> sp.	4			4		21			
	<i>Suphisselus</i> sp.	4			13		52			
Dípteros	Ceratopogonidae	6				33		67		
	Chironomidae	8	4	67	35	1633	29		73	33
	Culicidae	8					2			
	Ephydriidae	6			1					
	Sciomyzidae	6								
	Stratiomyidae	7								
	Tabanidae	6				33				
Odonatos	Coenagrionidae	8	11		18		200	300	63	
	<i>Aeshna bonariensis</i>	3	3				40			
	<i>Perithemis</i> sp.	2	1					100		
Efemerópteros	<i>Caenis</i> sp.	6			5				2	
	<i>Campsurus</i> sp.	4				133				
	<i>Callibetis</i> sp.	6			1		11		1	
Tricópteros		1								
Heterópteros	<i>Belostoma</i> sp.	5	2		11		27		2	
	Corixidae	10			1				2	
	Notonectidae	?			14	33				
	Phasmidae	?					1			
	<i>Stridulivelia</i> sp.	6			1		1			
Acaros	<i>Hydrachnidia</i> sp.	6	2		2	33	4			

Tabla A.3. Densidades de macroinvertebrados (ind/m²) en la vegetación (veg) y el sedimento (sed) de los arroyos (A°) estudiados, registradas el muestreo de noviembre de 2010.

Taxa		V.T	A° Martín		A° El Pescado		A° Zapata		A° Buñirigo	
			Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed
Cnidarios	<i>Hydra</i> sp.	5	4		2					
Turbelarios	Dugesidae	6	4		1					
	Themnocephala	6	1				3	267		
	Turb indet.	6				167				
Nematoda		10	1	2967	1	1500	3	133		267
Oligochaeta		8	196	17700	357	17333	367	18933	99	7533
Hirudinea		8	40	10067	5	2133	77	1100	2	533
Bivalvos	<i>Musculium</i> sp.	6								
	<i>Piscidium</i> sp.	6	6	533		500				
	<i>Limnoperna fortunei</i>	?			1					
Gasteropodos	<i>Uncancylus</i> sp.	6	55	100	5	2467	17		2	
	<i>Hebetancylus</i> sp.	6								
	<i>Biomphalaria</i> sp.	7	73	33	12	33	8			
	<i>Drepanotrema</i> sp.	7			7	100	1			
	<i>Physa</i> sp.	8	1				1			
	<i>Pomacea canaliculata</i>	6	62	133		33	13	100		
	<i>Heleobia</i> sp.	7	5	267	137	1633				
Crustaceos	<i>Heterocypris similis</i>	8	87	3267	20	1000	10	133	2	
	<i>Chlamydotheca</i> sp.	8	35		6	33	3			
	<i>Gomphocythere</i> sp.	8	324				102	933		
	Cyclopoidea	8	163	267	171	1100	3847	7467	245	667
	Calanoidea	8			8		1		72	333
	<i>Simocephalus</i> sp.	8	3		49	400	1368	533	1018	167
	<i>Diaphanosoma</i> sp.	8			118	333	20		42	333
	<i>Ceriodaphnia</i>	8					110		68	
	<i>Daphnia</i> sp.	8	14		57	67	520	267	547	
	<i>Macrotrix</i> sp.	8			19	33	738	133	2	
	Chydorido indet	8			8		1		2	67
	<i>Scapholeberis</i> sp.	8					17		13	
	Branchiura	?			1		1			
	<i>Hyaella curvispina</i>	8	155		1254	13200	3834	2533	3663	1533
	<i>Palaemonetes argentinus</i>	4							14	
	<i>Trichodactylus</i> sp.	4								
Colémbolos	Poduridae	10	11	33	1				8	
	Sminthuridae	10			1				2	
	Isotomidae	10	5		1				2	

Taxa (cont.)		V.T	A° Martín		A° El Pescado		A° Zapata		A° Buñirigo	
			Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed	Veg	Sed
Coleópteros	<i>Desmopachria</i> sp.	5	2		8		10			
	<i>Laccophilus</i> sp.	5			24		7		4	
	<i>Liodessus</i> sp.	5	3		26		19		125	
	<i>Megadytes</i> sp.	5			1					
	<i>Hidrochus</i> sp.	5	1							
	Larva indet.	5				67				
	<i>Berosus</i> sp.	5			8				2	
	<i>Derallus</i> sp.	5					2			
	<i>Enochrus</i> sp.	5	45		57		30	133	51	67
	<i>Paracymus</i> sp.	5			5	33	22	133	15	
	<i>Tropisternus lateralis</i>	5			17		2		2	
	<i>Tropisternus</i> sp.	5	20		14		21			
	<i>Suphis</i> sp.	4					1			
	<i>Suphisselus</i> sp.	4	5		54	33	138	267	6	
Dípteros	Ceratopogonidae	6			125	533			6	200
	Chironomidae	8	29	167	832	7700	159	667	44	667
	Culicidae	8	4				21		11	
	Ephydriidae	6	1		24		125	400	122	200
	Sciomyzidae	6								
	Stratiomyidae	7								
	Tabanidae	6								
Odonatos	Coenagrionidae	8	4	33	120	133	68		25	
	<i>Aeshna bonariensis</i>	3			21		1			
	<i>Perithemis</i> sp.	2					1			
Efemerópteros	<i>Caenis</i> sp.	6			21	467			2	67
	<i>Campsurus</i> sp.	4								
	<i>Callibetis</i> sp.	6	6		78		249	133	15	67
Tricópteros		1								
Heterópteros	<i>Belostoma</i> sp.	5	45		17		54		19	
	Corixidae	10	26		73	67	194	133	2	
	Notonectidae	?			2				8	
	Phasmidae	?								
	<i>Stridulivelia</i> sp.	6	2		7				8	
Acaros	<i>Hydrachnidia</i> sp.	6	5		5	33	13		4	

ANEXO II

Se analizó la correlación entre distintas métricas de *P. canaliculata*. De ser necesario, los datos fueron linearizados aplicando logaritmo natural.

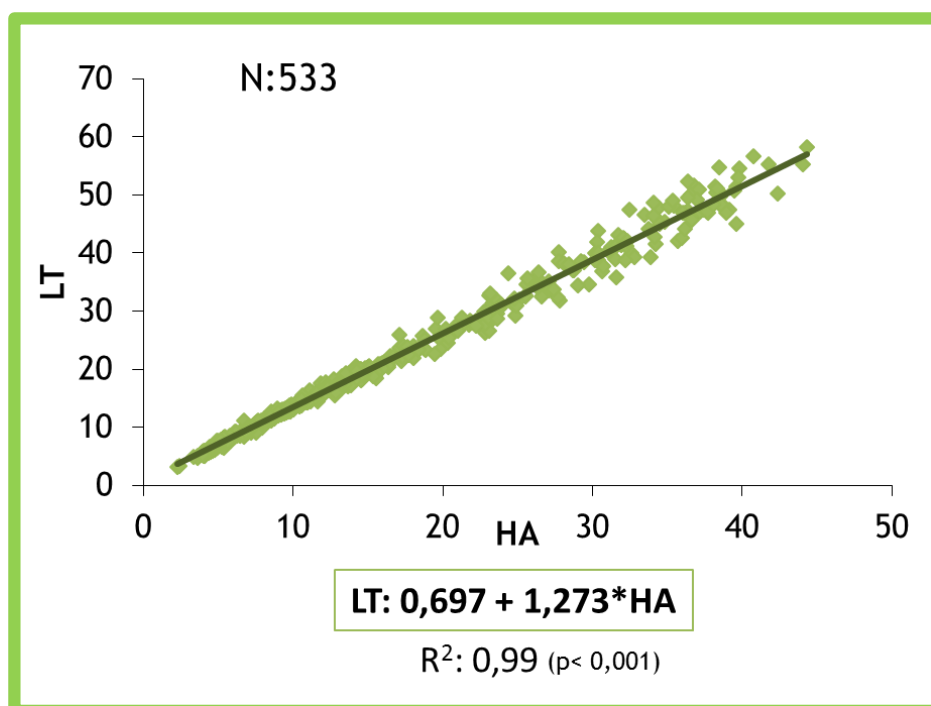


Fig. A.1. Relación entre el largo total (LT) y la altura de la abertura (HA). En este caso las tallas no fue necesario tranformar los datos. Se indica la significancia de la correlación.

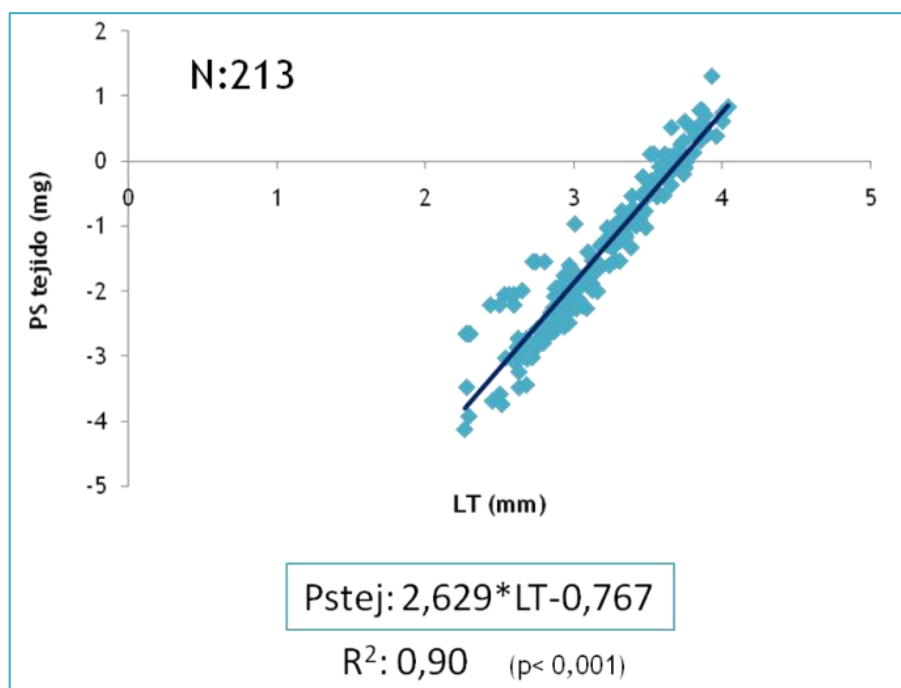


Fig. A.2. Relación entre el peso seco del tejido (PStej) y el largo total (mm).

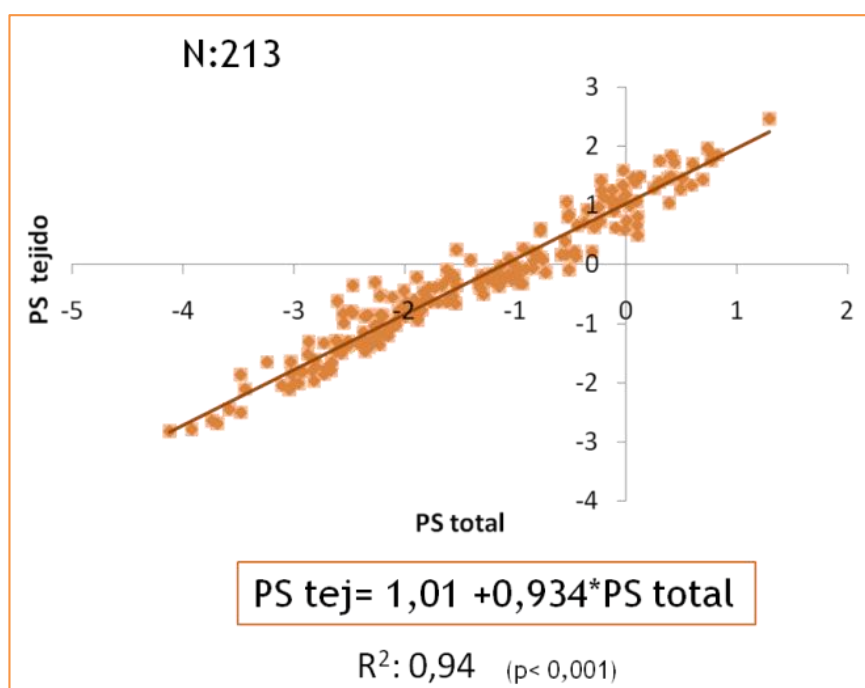


Fig. A.3. Relación entre el peso seco del tejido (PS tej) y el peso seco total (PS total, que incluye el peso de tejidos y partes duras).

Tabla A.4. Aporte relativo (%) de los distintos compartimentos al peso seco total. PS: Peso seco (mg); GA: Glándula de albumen.

	PS valva	PS opérculo	PS tejidos	PS GA
Promedio	74	1,76	23,6	6
DE	3,7	0,04	2,4	1,0
N	225	203	214	60

ANEXO III

Salud de los caracoles de la experiencia de supervivencia.

- 1) Caracol en buenas condiciones (Fig. A.4): muy activo. Despliega sus largos y sanos tentáculos y se desliza con rapidez a través de toda la cápsula. Frecuencia cardíaca de aproximadamente 60 latidos por minuto.

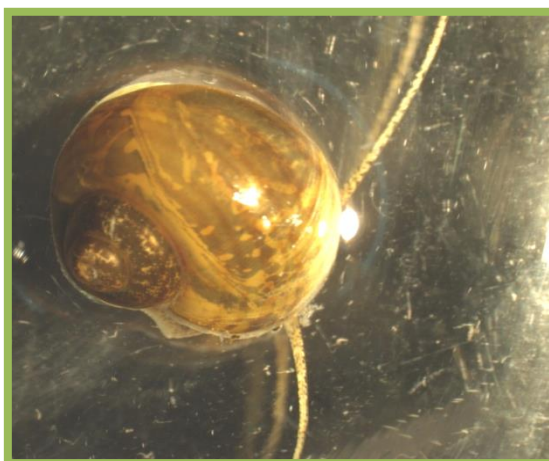


Fig. A.4. Individuo de *Pomacea canaliculata* en condiciones normales.

- 2) Caracol en malas condiciones, estadio 1 (incipiente) (Fig. A.5): Es más lento que el sano. Tiene mucho aire en el pulmón (flecha blanca, Fig. A. 5) y la frecuencia cardíaca es de aproximadamente 40 latidos por minuto, pero de mucha intensidad. Los tentáculos no se estiran del todo y están deformados (flecha negra).

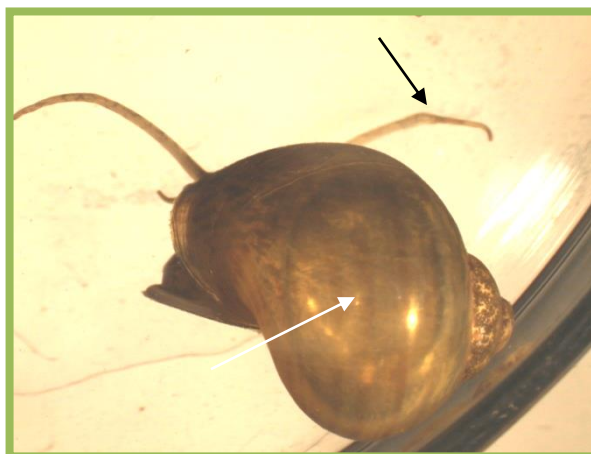


Fig. A.5. Individuo de *Pomacea canaliculata* con signos incipientes de infección. La flecha blanca indica la acumulación de aire en el pulmón y la negra las deformaciones tentaculares.

- 3) Caracol en malas condiciones, estadio 2 (avanzado)(Fig. A.6). Están quietos; después de varios minutos, siguen en la misma posición. Si bien se abren un poco pero nunca terminan de salir. Presentan una pequeña acumulación de una sustancia de aspecto mucoso o excremento saliendo (flecha negra, Fig. A.6.a). Frecuencia cardíaca disminuida (menor a 40 latidos por minuto). Los tentáculos se encuentran enrollados cerca de la cabeza (flecha blanca, Fig. A.6.b).

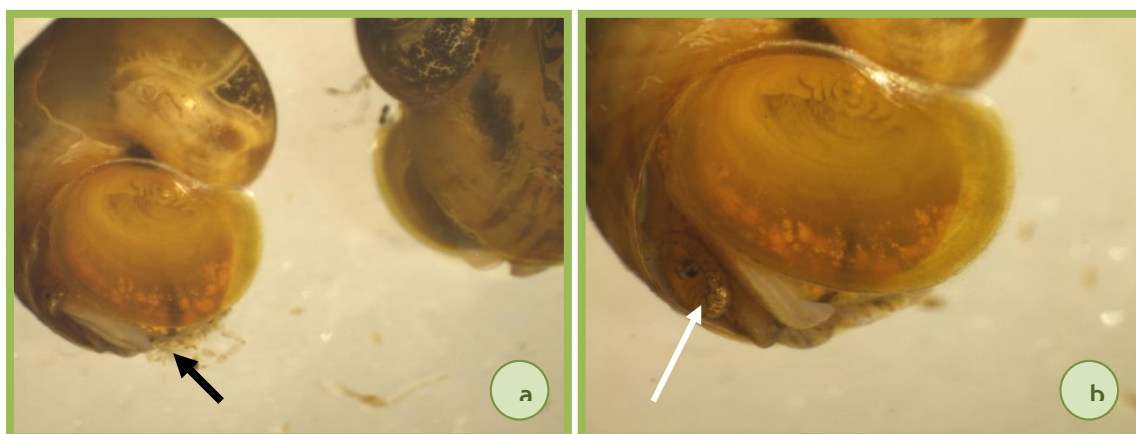


Fig. A.6. a y b. Individuos de *Pomacea canaliculata* con estadio avanzado de la infección. Las flechas indican la acumulación de mucosidad (flecha negra) y enrollamiento de los tentáculos (flecha blanca).

- 4) Caracol muerto (antes de que le aparezcan los hongos)(Fig. A.7).: hay de 2 tipos: los que se mueren cerrados y con el pulmón lleno de aire y, por tanto, quedan flotando en la superficie (cerrados) y los que mueren abiertos y con el cuerpo afuera que quedan en el fondo.

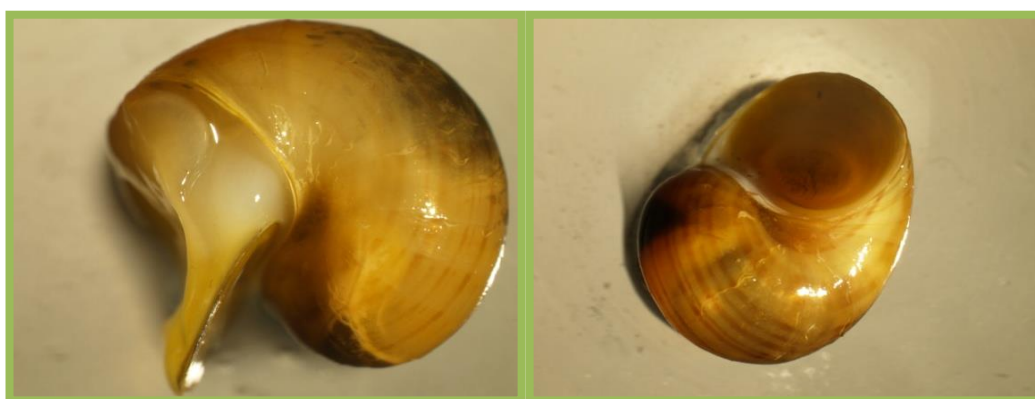


Fig. A.7. Caracoles de *Pomacea canaliculata* recientemente muertos.

- 5) Caracol muerto 2 (con halo de hongos): estén abiertos o cerrados, quedan rodeados de un halo blanco. Macroscópicamente, es una capa de aspecto mucoso

(Fig. A.8.a), pero en la lupa y el microscopio se ve que son hifas y ciliados (Fig. A.8.b).

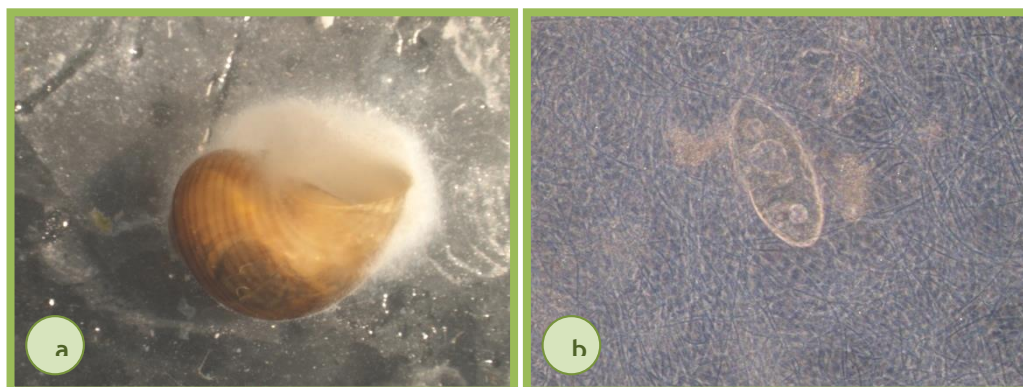


Fig. A.8 a. Aspecto externo del halo blanquecino que rodea a los individuos muertos de *Pomacea canaliculata* luego de algunos días. b. Hifas y ciliado presentes en el halo que rodea al individuo muerto vistos bajo microscopio.

ANEXO IV

Tabla A. 5. Resultados del Análisis de Componentes Principales (ACP). Aporte de cada variable a los factores (F1 y F2). **EV:** eigenvalues; **% Cont:** porcentaje de contribución de la variable al factor. **PRS:** Fósforo Reactivo Soluble; **NO₃⁻:** nitratos; **NO₂⁻:** nitritos; **NH₄⁺:** amonio; **DBO₅:** Demanda Bioquímica de oxígeno; **DQO:** Demanda química de oxígeno.

Variables	F1		F2	
	EV	% Cont	EV	% Cont
pH	-0,33	10,6	0,29	8,6
Conductividad	-0,40	16,3	0,02	0,1
OD	-0,26	6,8	0,29	8,5
Turbidez	-0,24	5,6	-0,20	4,1
Temperatura	0,43	18,2	-0,07	0,5
PRS	0,25	6,3	0,49	24,3
NO ₃ ⁻	0,43	18,0	-0,18	3,4
NO ₂ ⁻	0,12	1,3	0,49	24,4
NH ₄ ⁺	0,40	16,0	0,19	3,4
DBO ₅	0,06	0,3	0,14	2,1
DQO	0,05	0,2	-0,46	20,7